

**POTENSI BAKTERI RIZOSFER LAMTORO DI UB FOREST
SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT REBAH KECAMBAH
Rhizoctonia solani PADA TANAMAN KEDELAI**

Oleh

LISA EDNA DJEMELYANA



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

**POTENSI BAKTERI RIZOSFER LAMTORO DI UB FOREST SEBAGAI
PENGENDALI PENYAKIT REBAH KECAMBAH *Rhizoctonia solani*
PADA TANAMAN KEDELAI**

OLEH

LISA EDNA DJEMELYANA

145040201111283

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Potensi Bakteri Rizosfer Lamtoro di UB Forest
sebagai Pengendali Penyakit Rebah Kecambah
Rhizoctonia solani pada Tanaman Kedelai

Nama Mahasiswa : Lisa Edna Djemelyana

NIM : 145040201111283

Jurusan : HPT

Program Studi : Agroekoteknologi

Laboratorium : Bakteriologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,

 
Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIP. 19720919 199802 1 001 NIK. 201409880504 2 001

Diketahui
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 1955 1018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan:


LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

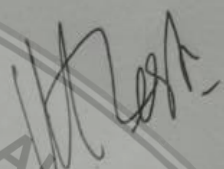
MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II


Antok Wahyu S., SP., MP.

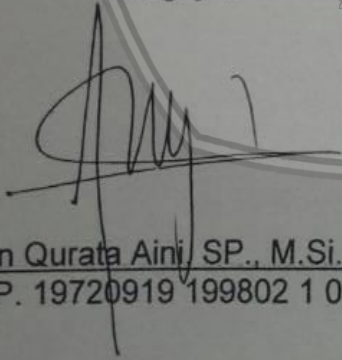
NIK. 201304841014 1 001


Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.


NIK. 201409880504 2 001

Penguji III

Penguji IV


Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.

NIP. 19720919 199802 1 001


Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS

NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus :

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar perguruan tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis terdapat dalam naskah ini dan disebutkan dalam pustaka.

Malang, Juli 2018

Lisa Edna Djemelyana



RINGKASAN

Lisa Edna Djemelyana. 145040201111283. Potensi Bakteri Rizosfer Lamtoro Di UB Forest Sebagai Pengendali Penyakit Rebah Kecambah *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Kedelai. Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. sebagai Pembimbing Pendamping.

Kedelai merupakan komoditas terpenting ketiga setelah padi dan jagung. Selain itu, kedelai juga merupakan komoditas palawija yang kaya akan protein. Seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk setiap tahunnya, upaya peningkatan produksi kedelai terus dilakukan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat. Namun terdapat beberapa kendala dalam peningkatan produksi antara lain organisme pengganggu tanaman. Salah satu penyakit penting kedelai adalah penyakit rebah kecambah. Penyakit rebah kecambah ini sudah banyak tersebar ke daerah pertanian di seluruh Indonesia. Kerugian yang ditimbulkan sebesar 70-80% jika keadaan lingkungan mendukung bagi patogen tersebut, misalnya pada musim hujan. Salah satu upaya pengendalian serangan jamur *R.solani* yaitu dengan agen hayati. Oleh karena itu dilakukan eksplorasi bakteri rizosfer di UB Forest untuk mengendalikan penyakit rebah kecambah.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan di Kelurahan Sumbersari, Kecamatan Lowokwaru Kota Malang dimulai pada bulan Januari hingga bulan Juni 2018. Tahapan penelitian yaitu pengambilan sampel tanah rizosfer tanaman legum, isolasi bakteri, seleksi bakteri antagonis, uji penghambatan pertumbuhan patogen *R.solani* secara *in vitro*, uji penghambatan penyakit rebah kecambah dan identifikasi bakteri

Hasil isolasi bakteri rizosfer legum diperoleh 31 isolat bakteri dan terdapat 9 isolat bakteri yang bersifat antagonis terhadap patogen *R.solani*. Dari 9 isolat bakteri dipilih 5 isolat yang memiliki penghambatan terbesar untuk dilakukan uji antagonis terhadap jamur patogen *R. solani*. Kelima isolat bakteri tersebut adalah isolat B11 dan B20 yang tergolong dalam genus *Clostridium*, isolat B27, B28 dan B30 tergolong dalam genus *Pantoea*. Isolat bakteri yang memiliki penghambatan tertinggi pada uji *in vitro* yaitu isolat B11 sebesar 34,99% yang termasuk dalam genus *Clostridium*. Sedangkan pada pengujian terbaik secara *in vivo* terjadi pada isolat B20 sebesar 13,75% yang merupakan genus *Clostridium*.

SUMMARY

Lisa Edna Djemelyana. 145040201111283. The Potency of *Leucaena Rhizosphere Bacteria* at UB Forest as Biological agents against Damping Off in Soybean. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. and Restu Rizkyta Kusuma, SP., M P., M.Sc.

Soybean is the third most important commodity after rice and maize. In addition, soybean is also a commodity that contains a lot proteins. Along with the increase of population every year, efforts to increase soybean production continue to be done to meet the needs of the community. But there are some obstacles in increasing production, one of them is pest. One of the most important diseases of soybean is damping off. Damping off disease have been widely spread to the cultivation area throughout Indonesia. The losses incurred amount to 70-80% if environmental conditions support for the pathogen, for example in the rainy season. An effort to control the *R. solani* attack is using biological agents. Therefore it is necessary to explore rhizosphere bacteria at UB Forest to control damping off disease.

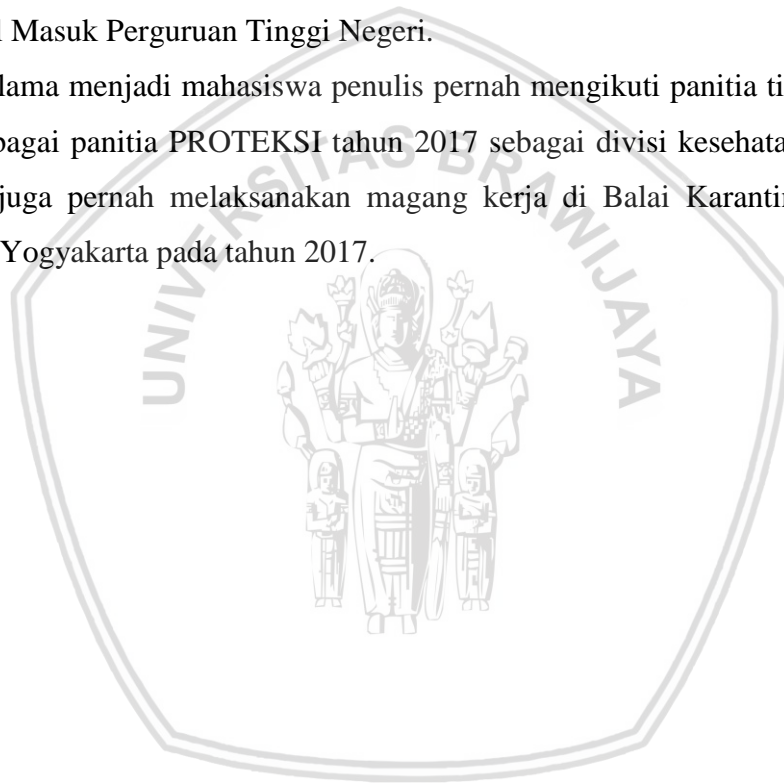
The research was conducted at Plant Disease Laboratory of Agriculture Faculty Brawijaya University and Sumber Sari Village Lowokwaru Malang started at Januari until June 2018. The research phases were, sampling of rhizosphere legumes, isolation of bacteria, selection of antagonistic bacteria, pathogen *R. solani* growth inhibition in vitro test, damping off growth inhibition test, and identification of bacterias.

The results of rhizosphere legume isolation obtained 30 bacterial isolates and there were 9 antagonistic bacterial isolates against *R. Solani*. From the 9 isolates of bacteria, 5 isolates were selected which had the greatest inhibition then tasted in vitro test. The five bacterial isolates were B11 and B20 isolates belong to the genus *Clostridium*, B27, B28 and B30 were belong to the genus *Pantoea*. Bacterial isolates that had the highest inhibition in vitro test was isolate B11 amount 34,99% which belong to the genus *Clostridium*. While the result of *in vitro* test that had the highest inhibition was isolate B20 amount 13,75% and belong to the genus *Clostridium*.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Ngentrong, Kecamatan Campurdarat, Kabupaten Tulungagung pada tanggal 14 September 1996 dari pasangan Bapak Edy Winarto dan Ibu Narwati. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Ngentrong 2 Kabupaten Tulungagung pada tahun 2002 dan lulus pada tahun 2008, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMPN 1 Campurdarat pada tahun 2009 dan sekolah menengah atas di SMAN 1 Campurdarat pada tahun 2011. Penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Universitas Brawijaya pada tahun 2014 dengan mengambil program studi Agroekoteknologi melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti panitia tingkat fakultas yaitu sebagai panitia PROTEKSI tahun 2017 sebagai divisi kesehatan. Selain itu penulis juga pernah melaksanakan magang kerja di Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta pada tahun 2017.



KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas karunia dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan penelitian yang berjudul “Potensi Bakteri Rizosfer Lamtoro di UB Forest sebagai Pengendali Penyakit Rebah Kecambah *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Kedelai”. Disusun untuk memenuhi kewajiban Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya dalam menyelesaikan program sarjana (S1).

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada Luqman Qurata Aini, SP.,M.Si.,Ph.D dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan pengarahan, kritik, saran serta motivasi yang membangun kepada penulis. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. dan Antok Wahyu Sektiono, SP.,MP. selaku dosen penguji atas saran dan nasihat. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada kedua orang tua dan adik saya atas kasih sayang, doa dan motivasi. Serta kepada teman-teman laboratorium Penyakit Tumbuhan 1 atas dukungan dan semangat yang diberikan kepada penulis.

Semoga hasil penulisan laporan ini dapat memberi manfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Juli 2018

Penulis



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai merupakan komoditas terpenting ketiga setelah padi dan jagung. Selain itu, kedelai juga merupakan komoditas palawija yang kaya akan protein (Damardjati *et al.*, 2005). Kedelai mengandung protein sebesar 35% bahkan pada varietas unggul kadar proteinnya dapat mencapai 40-43%. Kedelai mempunyai kandungan protein yang tinggi, hampir sama dengan kadar protein susu skim kering (Margono *et al.*, 2000). Berdasarkan data yang dikeluarkan Badan Pusat Statistik (2017), tercatat bahwa produksi kedelai di Indonesia pada tahun 2015 mencapai 963.183 ton. Seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk setiap tahunnya, upaya peningkatan produksi kedelai terus dilakukan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat. Namun didalam upaya untuk meningkatkan produksi kedelai tidak jarang mengalami beberapa kendala antara lain adalah adanya organisme pengganggu tanaman (OPT).

Salah satu OPT yang menyerang tanaman kedelai yaitu jamur patogen *Rhizoctonia solani* yang menyebabkan penyakit rebah kecambah. Penyakit rebah kecambah dapat terjadi sebelum tanaman muncul ke permukaan tanah (*preemergance damping off*) yang gejalanya diketahui dari biji membusuk sebelum tumbuh maupun bibit sudah muncul ke permukaan tanah (*post-emergance damping off*) tetapi kemudian layu karena bagian pangkal batangnya membusuk (Yulianti dan Ibrahim, 2000). Penyakit rebah kecambah di Indonesia dapat mengakibatkan kehilangan hasil hingga 100% jika serangan terjadi pada fase awal pertumbuhan. Jamur *R. solani* ini sangat sulit dikendalikan dikarenakan dapat membentruk sklerotia didalam tanah (Khadim *et al.*, 2014)

Pengendalian menggunakan pestisida sangat umum dilakukan, namun pengendalian menggunakan pestisida sintetik yang tidak bijaksana mampu menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan maupun kesehatan. Lingkungan yang tercemar dengan pestisida dapat menurunkan kesuburan tanah, pencemaran air, bahaya residu pestisida, menimbulkan resistensi patogen dan penurunan keanekaragaman hayati di dalam tanah. Oleh karena itu penggunaan agens hayati diharapkan mampu menjadi alternatif penting yang bersifat berkelanjutan dalam pengendalian penyakit tersebut. Pemanfaatan agens hayati merupakan suatu cara

pengendalian yang ramah lingkungan dan mampu mendukung keberlanjutan sistem budidaya tanaman, untuk itu perlu dilakukan eksplorasi untuk menemukan bakteri yang berpotensi sebagai antagonis pada perakaran tanaman leguminosa di UB Forest. UB Forest merupakan hutan pendidikan Universitas Brawijaya dengan luas lahan 544,74 hektar. Lokasinya berada di kawasan lereng Gunung Arjuno dengan ketinggian 3339 meter, Dusun Summersari, Desa Tawang Argo Kecamatan Karangploso Kabupaten Malang, dengan ketinggian 1200 meter diatas permukaan laut. UB Forest terdiri atas hutan konservasi dan hutan produksi. Jenis tanaman pada hutan produksi didominasi oleh pinus. Tanaman bawah tegakan yang diusahakan oleh masyarakat setempat yaitu kopi, jahe, wortel, sawi dan jenis sayuran lainnya. Selain itu UB Forest memiliki biodiversitas tinggi yang belum banyak dimanfaatkan.

Biodiversitas yang tinggi di UB Forest menyebabkan adanya mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap patogen, dan dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman. Mikroorganisme tersebut dapat ditemukan pada tanaman Leguminosae, salah satunya tanaman lamtoro yang banyak terdapat di UB Forest. Lamtoro termasuk dalam famili leguminosae yang mampu bersimbiosis dengan bakteri Rhizobium yang membentuk bintil-bintil akar yang dapat mengikat nitrogen bebas di udara.

Penelitian Dey *et al.*, (2004) melaporkan bahwa adanya inokulasi isolat *P. fluorescens* PGPR1, PGPR2, dan PGPR4 yang diperoleh dari rizosfer kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.), mampu menekan penyakit jamur patogen tular tanah seperti penyakit busuk kacang tanah yang disebabkan oleh *Aspergillus niger* dan isolat PGPR4 mampu menekan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfsii*. Solichatun *et al.*, (2013) juga melaporkan bahwa rizobakteri yang diisolasi dari akar kacang tanah mampu menghambat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara *in vitro* dengan persentase daya hambat terhadap *Klebsiella pneumoniae* isolat KTNA2 sebesar 89,98%, *Klebsiella pneumoniae* isolat KTGA1 sebesar 84,29%, *Acinetobacter baumannii* isolat KTGA3 sebesar 77,26%, dan *Stenotrophomonas maltophilia* isolat KTTA4 sebesar 73,21%.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri dan mengetahui jenis bakteri dari rizosfer lamtoro yang mampu menekan perkembangan jamur patogen *R. solani* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dari penelitian ini adalah bagaimana potensi bakteri rizosfer lamtoro di UB Forest sebagai pengendali penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri dan mengetahui jenis bakteri dari rizosfer lamtoro yang mampu menekan perkembangan jamur patogen *R. solani* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah ditemukan isolat bakteri yang mampu menekan perkembangan penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh jamur patogen *R. solani* pada tanaman kedelai serta memberikan informasi mengenai pengaruh aplikasi bakteri rizosfer lamtoro dalam menekan perkembangan penyakit rebah kecambah sehingga dapat digunakan untuk pengembangan metode pengendalian yang ramah lingkungan.

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu bakteri rizosfer lamtoro di UB Forest yang ditemukan mampu menghambat perkembangan penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai yang disebabkan oleh jamur patogen *R. solani*.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kedelai

Morfologi tanaman kedelai didukung oleh komponen utamanya yaitu akar, batang, daun, polong, dan biji sehingga pertumbuhannya optimal. Kedelai memiliki akar tunggang dan akar serabut yang panjangnya antara 20-50 cm tergantung pada kondisi tanah, jenis tanah, pengolahan tanah dan sebagainya. Batang kedelai bercabang dan berbuku-buku antara 15-30 buah. Daun kedelai memiliki dua bentuk yaitu bulat (*oval*) dan lancip (*lanceolate*) yang tergantung dari genetisnya. Tanaman kacang-kacangan yang termasuk tanaman kedelai, memiliki dua stadia tumbuh antara lain stadia vegetatif dan stadia reproduktif. Stadia vegetatif dimulai dari tanaman berkecambah sampai dengan berbunga. Sedangkan stadia reproduktif dimulai dari pembentukan bunga hingga pemasakan biji. Pembentukan polong terjadi 7-10 hari munculnya bunga. Polong berisi biji antara 2-3 dan warnanya berubah menjadi kecoklatan saat sudah masak (Irawan, 2006).

Tanaman kedelai termasuk dalam divisi Spermatophyta, kelas Dicotyledone, ordo Polypetales, famili Leguminos, genus *Glycine*, spesies *Glycine max*. Sebelumnya taksonomi tanaman kedelai dikenal dengan nama *G. soja* Sieb dan Zucc namun kemudian terjadi kesepakatan bahwa nama kedelai yang dibudidayakan yaitu *Glycine max* L. Merrill. Kedelai liar bernama *G. ussuriensis* diberi nama oleh Regal dan Maack, nama ini digunakan sampai tahun 1979 (Singh, 2010).

2.1 Ekologi Tanaman Kedelai

Di Indonesia pada umumnya kondisi iklim yang paling cocok untuk tanaman kedelai adalah daerah-daerah yang mempunyai suhu antara 25-27 °C, kelembapan udara rata-rata 65%, penyinaran matahari 12 jam per hari atau minimal 10 jam perhari dan curah hujan paling optimum antara 100-200 mm/bulan. Tanah yang cocok untuk pertumbuhan tanaman kedelai yaitu tanah yang bertekstur gembur, lembab tidak tergenang air dan memiliki pH 6–6,8. Pada pH 5,5 kedelai masih dapat tumbuh dan berproduksi, meskipun tidak sebaik pada pH 6–6,8. Pada pH 5,5 pertumbuhan sangat terhambat karena keracunan Al, untuk mengatasinya lahan perlu dikapur. Tanaman kedelai mempunyai daya adaptasi yang luas terhadap berbagai jenis tanah. Berdasarkan kesesuaian jenis tanah untuk pertanian maka

tanaman kedelai cocok ditanam pada jenis tanah alluvial, regosol, grumosol, latosol dan andosol (Jayasumarta,2012).

2.3 Penyakit Rebah Kecambah

Jamur patogen *R. solani* dapat bertahan hidup di dalam tanah dalam bentuk sklerotium atau miselium dorman dan dapat pula bertahan hidup pada biji. Infeksi tanaman terjadi pada fase pratumboh, saat benih tumbuh, maupun fase pasca tumbuh yang mengakibatkan tanaman berwarna kuning, kerdil, layu, dan mati (Khaeruni *et al.*, 2014). Serangan patogen tular tanah jamur *R. solani* dan *S.rolfsii* pada tanaman diawali dengan infeksi pada bagian akar atau batang yang berbatasan dengan permukaan tanah. Infeksi menyebabkan terjadinya transportasi hara dan air tersumbat sehingga tanaman layu. Patogen selanjutnya menyebar ke seluruh bagian tanaman dan menyebabkan pembusukan. Pada permukaan tanah di sekitar tanaman yang terserang terdapat miselium putih dan sklerotia. Serangan parah sering terjadi pada musim hujan, yang menyebabkan seluruh tanaman di suatu area menjadi layu dan gagal panen (Sumartini, 2011). Infeksi jamur patogen *R. solani* pada fase kecambah dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Infeksi *R. solani* pada fase kecambah (Inayati dan Yusnawan,2012).

Jamur *R. solani* sangat sulit dikendalikan karena mampu bertahan di dalam tanah dengan membentuk sklerosia atau hifa bermelanin dalam sisa-sisa tanaman atau substrat bahan organik (Sneh *et al.*, 1991). Sklerosia (yang dapat terbentuk di tanaman maupun di tanah) merupakan sumber inokulum primer di lahan dan dapat bertahan selama beberapa tahun di tanah. Ketika kondisi lingkungan mendukung bagi pertumbuhannya maka sklerosia tersebut akan berkecambah dan jika menemukan inang yang sesuai, hifa yang berasal dari perkecambahan sklerosia dapat menginfeksi tanaman inang yang ada (Gutierrez *et al.*, 1997). Penyakit yang disebabkan oleh jamur *R. solani* dipicu kondisi lahan dengan kelembaban tinggi, drainase yang buruk dan cuaca yang panas. Pembentukan sklerotia dirangsang oleh

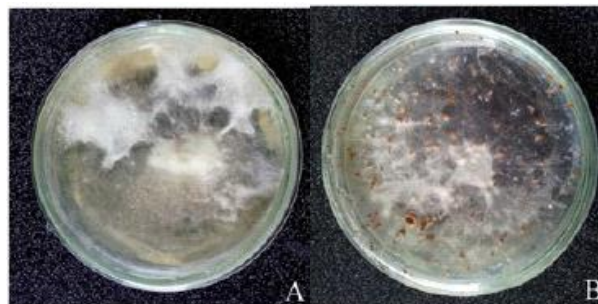
faktor peningkatan suhu (Russin dan Stetina,1999). Kelembapan tinggi dibutuhkan untuk membentuk sklerotia secara optimal. Sklerotia gagal berkecambah ketika kelembapan relatif jauh dibawah saturasi. Namun, ada beberapa penelitian menegaskan bahwa sklerotia berkecambah secara maksimal pada suhu 25-35°C (Agrios,2005).

2.4 Deskripsi Jamur *Rhizoctonia solani*

Jamur *R. solani* merupakan kelas *Deuteromycetes* yang memiliki morfologi mikroskopis tidak membentuk spora dan berkembang biak dengan miselia dan sklerosia. Sklerosia berukuran besar dengan diameter 2-5 mm, berbentuk bulat hingga tidak beraturan dan berwarna coklat (Rahayu *et al.*, 2011). Sharema *et al.*, 2013) menambahkan bahwa jamur *R. solani* membentuk sklerotia sebagai struktur tahan yang berwarna coklat kehitaman. Sklerotia terdiri dari kelompok melanin berkerak, berdinding sel tebal, kaya nutrisi, terbentuk oleh cabang pendek yang berulang-ulang, tebal, dan hifa lateral. Jamur *R. solani* memiliki ciri-ciri mikroskopis yaitu tidak membentuk konidia, hifa muda tidak berwarna, hifa dewasa berwarna putih hingga coklat kehitaman, panjang hifa 8-12 µm, dan memiliki septa. Biasanya hifa membentuk percabangan dengan sudut 90° (gambar 2). Kumpulan hifa membentuk sklerotia yang mengumpul terpusat pada satu titik dan menyebar dikoloni (Agrios,2005)



Gambar 2.Morfologi mikroskopis jamur *R. solani* (Noverita, 2009)



Gambar 3. Morfologi makroskopis jamur *R. solani* pada media: A. Koloni *R. solani* yang belum membentuk sklerotium; B. Koloni *R. solani* yang membentuk sklerotium (Wibisono *et al.*, 2014)

2.5 Deskripsi Tanaman Leguminosa Lamtoro

Taksonomi tanaman lamtoro diklasifikasikan sebagai berikut kingdom Plantae, divisi Magnoliphyta, kelas Magnoliopsida, ordo Fabales, famili Fabaceae, genus *Leucaena*, spesies *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (Nuraeni, 2015). Lamtoro merupakan tanaman yang mudah tumbuh, akarnya dapat menembus lapisan tanah yang keras. Tanaman ini tahan terhadap kekeringan dengan curah hujan 200 mm/thn, terutama setelah tinggi pohonnya mencapai 1 m. Dapat tumbuh baik di daerah dengan curah hujan 600–1500 mm/th dan mempunyai akar tunggang yang kuat dan berakar serabut sedikit, biasanya panjang akarnya mencapai 2/3 tinggi pohonnya, sehingga lamtoro dapat menghisap zat-zat makanan jauh ke dalam tanah dimana tanaman lain tidak dapat mencapainya (Benge, 1982 dalam Nuraeni, 2015).

Tanaman Leguminosae dikenal memiliki keragaman mikroba dalam tanah melalui eksudat akarnya serta dapat memberikan dampak positif untuk pengendalian patogen tular tanah. Tanaman Leguminosae mampu menghasilkan zat metabolit sekunder ketika dalam kondisi sel yang kekurangan nutrisi atau pertumbuhan suboptimal (Widayanti, 2007). Zat metabolit sekunder tersebut dikeluarkan pada organ akar sebagai zat eksudat. Luteolin (3,4,5,7-tetra hidroksiflavon) merupakan bahan kimia yang terkandung dalam zat eksudat yang dikeluarkan tumbuhan dan berperan dalam merangsang perkembangan bakteri. (Subandi, 2010).

2.6 Agens Antagonis

Mekanisme bakteri antagonis dalam mengendalikan penyakit pada tanaman menurut Sharma *et al.* (2013) yaitu sebagai berikut:

1. Antibiosis, merupakan proses antagonis mengeluarkan senyawa metabolit, agen litik, enzim, senyawa racun dan antibiotik dalam mengendalikan patogen.
2. Kompetisi, yaitu mikroorganisme bertahan hidup di habitat alami mereka dengan cara bersaing ruang, mineral dan nutrisi untuk berkembang biak.
3. Parasitisme, yaitu terjadi jika antagonis menyerang patogen dengan mengeluarkan enzim seperti kitinase, selulosa dan enzim litik lainnya.

Sedangkan menurut Nurhayati (2011), agens pengendali hayati memiliki tiga mekanisme dalam mengendalikan patogen, antara lain:

1. Hiperparasitisme: terjadi perusakan patogen oleh senyawa atau zat yang dihasilkan oleh agens antagonis seperti kitinase, selulase, glukonase dan enzim pelisis.
2. Kompetisi: merupakan penekanan aktivitas patogen oleh agens pengendali hayati terhadap sumber-sumber terbatas, seperti zat organik, zat anorganik, ruang dan faktor-faktor pertumbuhan lain. Terjadinya persaingan dalam mendapatkan ruang hidup dan hara, seperti karbohidrat, ZPT, nitrogen dan vitamin.
3. Antibiosis: merupakan penghambatan patogen oleh senyawa metabolik yang dihasilkan oleh agensia hayati seperti : enzim, senyawa volatil, zat pelisis dan senyawa antibiotik lain.

Bakteri-bakteri yang bermanfaat untuk tanaman diantaranya ialah *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*. Bakteri-bakteri antagonis tersebut diketahui mampu menghambat jamur patogen dengan menghasilkan senyawa yang diketahui sebagai antifungal. Bakteri *Bacillus* sp. mampu menghasilkan senyawa *fengycin* dan *bacillomycin* yang diketahui sebagai antifungal, dan banyak senyawa peptid antibiotik lainnya yang diproduksi oleh *Bacillus* sp (Stein, 2005). Sedangkan bakteri *Pseudomonas* sp. mampu menghasilkan senyawa antibiotik (antifungal), siderofor, dan metabolit sekunder lainnya yang sifatnya dapat menghambat aktivitas jamur (Haas dan Devago, 2005).



III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang dan kelurahan Sumber Sari, Kecamatan Lowokwaru, Malang. Penelitian dimulai pada bulan Januari hingga bulan Juni 2018.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini antara lain mikroskop, *autoclave*, kompor listrik, timbangan analitik, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF), kamera, cawan Petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, pipet tetes, jarum ose, stik L, *cork borer*, gelas ukur, botol media, pinset, gunting, *cutter*, bunsen, tube, *tray* pembibitan, mikropipet, dan *sprayer*.

Bahan yang digunakan adalah tanah dari perakaran tanaman lamtoro yang termasuk dalam tanaman leguminosa, isolat jamur *R. solani*, media *Nutrient Agar* (NA) instan, media *Potato Dextrose Agar* (PDA) instan, Aquades steril, alkohol 70%, alkohol 96% spirtus, kertas saring, *tissue*, aluminium foil, formalin 4%, tanah, kompos, plastik wrap, pepton, NaCl, Bromotimol blue, agar, glukosa, KOH 3%, H₂O₂, safranin, iodine, kristal violet, parafin cair, klorampenikol, tanah, benih kedelai varietas Anjasmoro dan Fungisida berbahan aktif kaptan.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan dengan rincian sebagai berikut:

3.3.1. Perbanyakan Jamur *R. solani*

Jamur *R. solani* diperoleh dari koleksi Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi). Kemudian dilakukan pemurnian dengan mengambil sebagian miselium jamur dan dipindahkan pada media PDA baru. Jamur *R. solani* diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang untuk mendapatkan biakan murni.

3.3.2. Pengambilan sampel tanah dan isolasi

Sampel tanah diambil dari perakaran tanaman lamtoro. Contoh tanah diambil menggunakan cetok dengan diameter 5 cm pada kedalaman 5 cm-10 cm sebanyak 4 titik. Masing masing titik dilakukan pengenceran untuk mengeksplorasi bakteri rizosfer. Sampel tanah yang telah diambil dari lapang diisolasi menggunakan

metode pengenceran bertingkat dengan mencampurkan sebanyak 1 gram sampel tanah dan aquades steril sebanyak 10 ml, kemudian dihomogenkan. Suspensi diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan kedalam 9 ml aquades steril pada tabung. Pengenceran sampel tanah hingga tingkat 10^{-9} . Setiap pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-9} diambil 0,1 ml dan ditumbuhkan pada media NA (Madigan dan Martinko, 2006). Biakan bakteri tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Setiap koloni bakteri yang tumbuh dilakukan purifikasi hingga mendapatkan koloni tunggal.

3.3.3. Seleksi Bakteri Antagonis

Seleksi awal dilakukan dengan menyeleksi bakteri yang ditemukan pada perakaran tumbuhan lamtoro dengan jamur *Rhizoctonia solani* pada media PDA. Pengujian antagonis bakteri rizosfer dilakukan dengan menginokulasikan bakteri antagonis pada kertas saring yang berdiameter 0,5 cm. Seleksi dilakukan dengan cara metode biakan ganda yang dimodifikasi dalam satu cawan konfrontasi atau *modification co-culture method* (Widyastuti, 2007 dalam Herliyana *et al.*, 2013). Isolat jamur diletakkan pada titik potong garis cawan petri, kemudian kertas saring yang telah diinokulasi bakteri diletakkan pada 4 posisi dengan mengapit jamur patogen *R. solani* yang masing-masing jaraknya 3 cm. Biakan uji antagonis kemudian diinkubasi pada suhu kamar (28-30°C) dan dilakukan pengamatan hingga jamur *R. solani* tumbuh mencapai tepi cawan. . Bakteri yang memiliki kemampuan menghambat yang besar di ambil untuk pengujian selanjutnya.

3.3.4. Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui sifat patogenik suatu bakteri. Uji hipersensitif dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri dari biakan murni bakteri yang berumur 48 jam, kemudian diinfiltrasikan pada daun tembakau. Jika daun tembakau tidak mengalami nekrotik maka bakteri yang diinokulasikan tersebut bukan merupakan bakteri patogen tanaman dan sebaliknya jika daun tembakau yang diinokulasikan bakteri mengalami nekrotik, maka bakteri tersebut merupakan patogen tanaman.

3.3.5. Uji Penghambatan Pertumbuhan Jamur *Rhizoctonia solani* Secara *In vitro*.

Biakan isolat *R. solani* di purifikasi pada media PDA dan diinkubasi selama 1 minggu untuk mendapatkan biakan murni. Sedangkan sebanyak 5 isolat tunggal bakteri rizosfer yang memiliki kemampuan antagonis terbaik diremajakan pada media NA diinkubasi pada suhu ruang selama 2 kali 24 jam untuk mendapatkan bakteri murni. Metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah metode oposisi langsung yaitu dengan menumbuhkan isolat bakteri antagonis berhadapan langsung dengan isolat jamur *R. solani*. Pengujian bakteri dilakukan dengan menginokulasikan bakteri antagonis pada kertas saring yang berdiameter 0,5 cm. Setelah itu kertas saring ditanam pada media PDA dengan jarak 3 cm dengan miselium jamur *R. solani* yang telah diambil dari biakan murni menggunakan *cork borer*. Pengamatan dilakukan hingga koloni jamur *R. solani* menyentuh tepi cawan Petri.

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan 4 ulangan.

Tabel 1. Perlakuan uji penghambatan jamur patogen *R. solani* secara in vitro

Perlakuan	Keterangan
P1	Kontrol
P2	Fungisida
P3	Isolat B 11
P4	Isolat B 20
P5	Isolat B 27
P6	Isolat B 28
P7	Isolat B 30

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jari-jari pertumbuhan jamur patogen *R. solani* antara perlakuan kontrol dibandingkan dengan perlakuan menggunakan isolat bakteri antagonis rizosfer. Perhitungan persentase penghambatan diukur berdasarkan rumus dari (Rhoklani *et al.*, 2005).

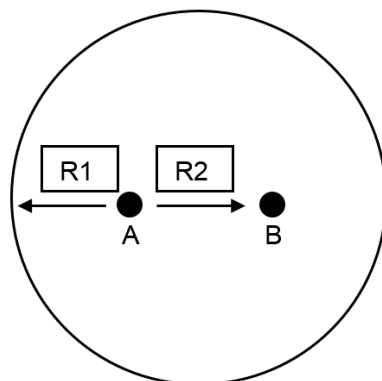
$$I = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan :

I : Persentase penghambatan

R1 : Jari-jari koloni jamur patogen *R. solani* yang menjauhi antagonis

R2 : Jari-jari koloni jamur patogen *R. solani* yang mendekati antagonis



Gambar 1. Metode oposisi langsung. (R1) jari-jari koloni yang menjauhi antagonis; (R2) jari-jari koloni yang mendekati antagonis; (A) koloni patogen; (B) koloni antagonis.

3.3.6. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis

Identifikasi dan karakterisasi bakteri antagonis dilakukan berdasarkan menurut Bergey's Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad., *et al* (2001). Bakteri yang diidentifikasi berdasarkan hasil seleksi yang bersifat antagonis.

1. Uji Gram

Uji KOH 3%

Biakan murni bakteri yang berumur 24 jam di suspensikan diatas gelas objek yang sebelumnya telah ditetesi dengan KOH 3%. Kemudian diaduk menggunakan jarum ose. Apabila pada saat jarum ose ditarik ke atas dan menghasilkan lendir, maka bakteri tersebut merupakan gram negatif. Reaksi bakteri gram positif terjadi jika suspensi tidak membentuk lendir saat ditarik ke atas.

Pewarnaan Gram

Isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil satu ose bakteri dan diletakkan pada gelas objek kemudian ditambah dengan aquades. Kemudian dikeringkan diatas bunsen hingga kering. Selanjutnya dilakukan pengecatan dengan Kristal Violet sebanyak 1 tetes dan didiamkan selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir kemudian dikering anginkan diatas Bunsen. Kemudian gelas objek ditetesi dengan larutan Iodine dan didiamkan selama 1 menit kemudian di cuci dengan air mengalir. Setelah dikering anginkan gelas objek tersebt ditetesi dengan alkohol 70% dan didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya dikering-anginkan lagi, jika sudah kering dilanjutkan dengan pengecatan menggunakan safranin selama 1

menit dan dicuci dengan air mengalir. Langkah selanjutnya dilakukan pengamatan dibawah mikroskop yang sebelumnya gelas objek ditetesi dengan minyak immerse. Jika gelas objek menunjukkan warna merah maka bakteri menunjukkan gram negatif. Sedangkan jika berwarna ungu maka bakteri tersebut merupakan gram positif.

Pewarnaan Spora

Pengujian pewarnaan spora dilakukan dengan cara mengambil bakteri yang berumur 24 jam diatas gelas objek dan dikeringkan diatas bunsen. Kemudian ditetesi dengan *malachite green* sebanyak dua tetes dan dibiarkan selama 10 menit. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Kemudian di tetesi dengan safranin dan didiamkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Isolat diamati dibawah mikroskop. Pengamatan spora berupa sel bakteri akan berwarna merah, jika sel membentuk spora maka spora akan berwarna hijau.

2. Uji Oksidatif Fermentatif

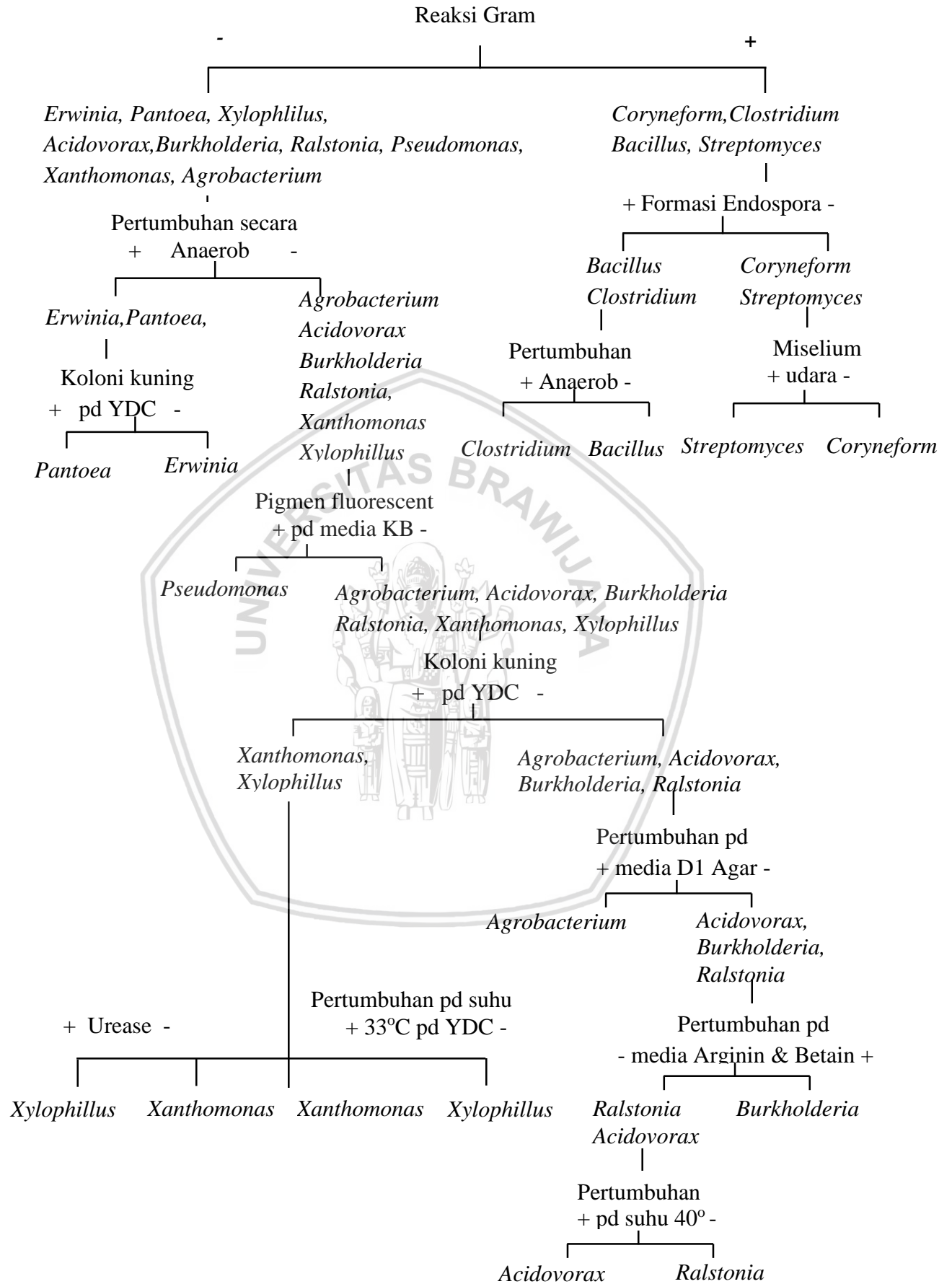
Uji oksidatif-fermentatif dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media fermentasi glukosa pada tabung reaksi dengan pH 7. Media terdiri dari pepton 2 gram, KH_2PO_4 0,3 gram, NaCl 5 gram, agar 3 gram, bromothymolblue (1%) 3 ml. Tabung reaksi diberi 0,5 ml larutan glukosa 10% secara aseptis. Pengujian dilakukan dengan menggunakan 2 tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan 5 ml media. Biakan murni bakteri yang berumur 24 jam ditusukkan dalam media pada kedua tabung reaksi. Salah satu tabung ditutup dengan parafin dan diinkubasi selama 7-14 hari. Reaksi fermentatif terjadi apabila terjadi perubahan warna biru menjadi kuning pada kedua tabung.

3. Pertumbuhan pada Media YDC

Media YDC terdiri dari yeast ekstrak 10 gram, glukosa 20 gram, CaCO_3 20 gram dan agar 15 gram yang dilarutkan dalam 1 liter aquades kemudian media disterilkan dengan autoclave. Bakteri uji digoreskan pada media YDC yang kemudian diinkubasi selama 48 jam. Jika bakteri yang tumbuh berwarna kuning maka bakteri tergolong dalam genus *Pantoea*. Sedangkan jika bakteri yang tumbuh berwarna putih, maka bakteri tergolong dalam genus *Erwinia*.

Berikut merupakan gambar diagram dari beberapa metode yang dilakukan untuk identifikasi bakteri antagonis berdasarkan Schaad., *et al* (2001).





Gambar 2. Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus (Schaad ., et al (2001))

3.3.7. Uji Penghambatan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai.

Uji penghambatan penyakit rebah kecambah tanaman kedelai menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 7 perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak 4 kali. Setiap perlakuan terdiri dari 20 tanaman.

Tabel 2. Perlakuan uji penghambatan jamur patogen *R. solani* secara *in vivo*

Perlakuan	Keterangan
P1	Kontrol
P2	Fungisida
P3	Isolat B 11
P4	Isolat B 20
P5	Isolat B 27
P6	Isolat B 28
P7	Isolat B 30

a. Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan yaitu tanah dan kompos dengan perbandingan 1 : 1 yang telah disterilisasi dahulu dengan formalin 4%. Sterilisasi tanah menggunakan formalin 4% dilakukan dengan cara menyemprotkan formalin pada tanah secara merata. Kemudian tanah diinkubasi selama tujuh hari dan dikering anginkan selama 4 hari (Silaban *et al.*, 2015).

b. Aplikasi Bakteri Antagonis

Metode yang digunakan dalam aplikasi bakteri antagonis adalah metode perendaman benih dan penyiraman bakteri antagonis. Benih kedelai yang digunakan adalah benih kedelai varietas Anjasmoro. Benih direndam selama 4 jam dengan bakteri antagonis pada suhu ruang dengan kerapatan bakteri 10^9 cfu/ml (Abidin *et al.*, 2014). Sedangkan aplikasi fungisida dengan bahan aktif kaptan dilakukan dengan dosis yang dianjurkan yaitu 2-4 ml/l.

c. Inokulasi Jamur *R. solani*

Inokulasi jamur patogen dilakukan pada umur tanaman 6 hst. Inokulasi dilakukan dengan cara mengambil koloni jamur patogen pada biakan di cawan Petri menggunakan *cork borer* dan diletakkan pada masing-masing lubang tanam benih kedelai. Koloni jamur diambil menggunakan jarum Ose dan ditempatkan di permukaan media tanam kedelai yang telah dilubangi. Masing-masing lubang tanam diisi dengan

2 koloni jamur yang sudah dibentuk menggunakan *cork borer* (Abidin *et al.*, 2014).

d. Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman dan penyiangan gulma. Penyiraman dilakukan setiap pagi dan sore hari.

3.4 Variabel Pengamatan

a. Persentase Kejadian penyakit

Pengamatan dilakukan ketika mulai muncul gejala rebah kecambah. Kemudian setiap perlakuan dan ulangan dihitung persentase kejadian penyakit pada tanaman yang terserang rebah kecambah. Persentase kejadian penyakit *R. solani* dihitung menggunakan rumus berdasarkan (Tindaon, 2008):

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

KP : Persentase Kejadian Penyakit

n : Jumlah tanaman yang terserang patogen *R. solani*

N : Total tanaman yang diamati

b. Efektifitas Bakteri Antagonis

Efektifitas bakteri antagonis dihitung menggunakan rumus Abbot (Rachmawati dan Handoko, 2007), sebagai berikut:

$$EI = \frac{Ca - Ta}{Ca} \times 100\%$$

Keterangan :

EI : Efektifitas bakteri antagonis

Ca : Jumlah tanaman pada perlakuan kontrol yang terserang penyakit rebah kecambah

Ta : Jumlah tanaman pada perlakuan non kontrol yang terserang penyakit rebah kecambah.

3.5 Analisis data

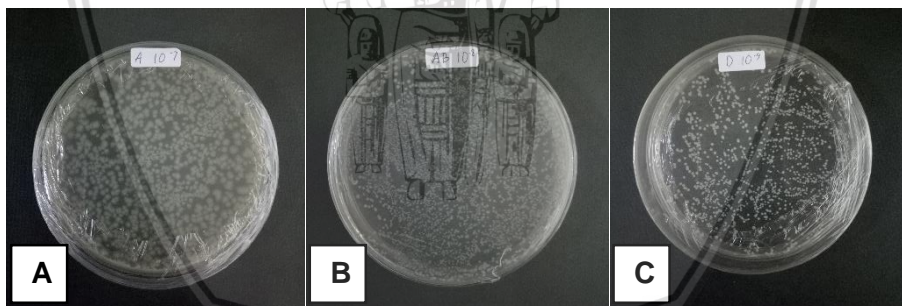
Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kesalahan 5%. Bila hasil pengujian terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan (DMRT) pada taraf kesalahan 5%



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Eksplorasi Bakteri Rizosfer Tanaman Legum

Sampel tanah diambil dari UB Forest yang terletak di Dusun Summersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. Sampel tanah rizosfer lamtoro diambil pada empat titik yang berbeda. Hasil isolasi dengan metode pengenceran bertingkat diperoleh 31 isolat bakteri yang memiliki morfologi berbeda. Pada 31 isolat bakteri dilakukan purifikasi pada media NA untuk mendapatkan biakan murni bakteri. Rizosfer merupakan daerah ideal bagi tumbuh dan berkembangnya mikroba tanah, hal ini karena didukung oleh fungsinya yaitu sebagai penyedia nutrisi dan juga sebagai tempat tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme (Sudrajat *et al.*, 2014). Menurut Mariana (2013), tingginya populasi bakteri di permukaan tanah disebabkan oleh sistem perakaran tumbuhan yang memungkinkan ketersediaan substrat dan suplai makanan sehingga metabolit akar tanaman akan meningkatkan nutrisi di dalam tanah yang berpengaruh terhadap populasi bakteri tanah. Hasil eksplorasi bakteri kemudian dilakukan pengujian untuk mengetahui potensi setiap isolat bakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *R. solani* secara *in vitro*.



Gambar 1. Hasil eksplorasi bakteri pada 48 HST (A) pengenceran 10⁻⁷ (B) pengenceran 10⁻⁸, (C) pengenceran 10⁻⁹

4.2 Seleksi Bakteri Rizosfer yang Bersifat Antagonis Terhadap Jamur *R. solani* secara *In Vitro*

Hasil eksplorasi bakteri rizosfer lamtoro di UB Forest yang telah dilakukan diperoleh sebanyak 31 bakteri. Kemudian 31 isolat bakteri diuji sifat antagonisnya terhadap jamur patogen *R. solani* pada cawan Petri. Daya antagonis ditandai dengan adanya zona hambat yang dihasilkan antara jamur *R. solani* dengan bakteri rizosfer hasil eksplorasi. Berdasarkan hasil seleksi bakteri antagonis didapatkan 9 bakteri

yang bersifat antagonis. Selanjutnya diambil 5 bakteri yang menghasilkan zona hambat tinggi untuk dilakukan uji *in vitro*.

Tabel 1. Persentase zona hambat isolat bakteri rizosfer lamtoro terhadap jamur *R. solani*

Kode Isolat	Persentase zona hambat (%)	Kode Isolat	Persentase zona hambat (%)
B1	0	B17	0
B2	0	B18	0
B3	0	B19	51,11
B4	0	B20*	53,33
B5	0	B21	0
B6	0	B22	0
B7	0	B23	0
B8	0	B24	0
B9	0	B25	0
B10	48,88	B26	0
B11*	55,33	B27*	57,77
B12	0	B28*	57,77
B13	0	B29	51,55
B14	0	B30*	55,55
B15	0	B31	48,88
B16	0		

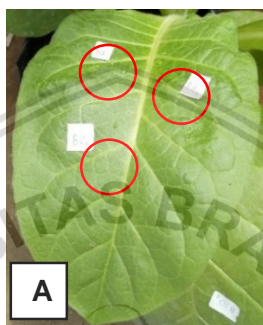
Keterangan : (*) dilakukan uji lanjut.

Persentase penghambatan lima isolat terbesar yaitu pada bakteri isolat B11, B20, B27, B28, dan B30. Persentase penghambatan pada bakteri isolat B11 sebesar 55,55%. pada bakteri isolat B20 dengan persentase penghambatan sebesar 53,33%, pada bakteri isolat B27 dan B28 dengan persentase penghambatan sebesar 57,77% dan pada bakteri isolat B30 dengan persentase penghambatan sebesar 55,55%. Lima Isolat yang memiliki persentase penghambatan tertinggi dipilih untuk dilakukan uji antagonis dengan jamur patogen *R. solani*. Perbedaan penghambatan suatu bakteri terjadi karena adanya senyawa antibiotik yang dihasilkan berbeda (Raharini *et al.*,2012). Menurut Zhang (2004), kemampuan suatu agens hayati dalam menekan patogen biasanya melibatkan satu atau beberapa mekanisme penghambatan, diantaranya dengan menghasilkan antibiotik, toksin, kompetisi ruang dan nutrisi serta menghasilkan sideofor.

4.3 Uji Hipersensitif

Hipersensitif merupakan suatu bentuk pertahanan tanaman dalam merespon serangan patogen, jika daun tembakau yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri tidak menunjukkan gejala nekrotik, maka isolat bakteri bersifat non

patogenik (Agrios, 2005). Berdasarkan hasil uji hipersensitif kelima isolat bakteri antagonis tidak menunjukkan reaksi nekrotik pada daun tembakau yang telah diinfiltrasikan suspensi bakteri, maka kelima isolat bukan merupakan patogen tanaman. Menurut Wahyudi *et al.*, (2011) Reaksi hipersensitif merupakan program kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan pathogen. Induksi reaksi hipersensitif dan patogenisitas dipengaruhi oleh gen *hrp* yang umum ditemukan pada bakteri Gram negatif patogen tanaman



Gambar 2. Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau isolat bakteri B 11

4.4 Uji Penghambatan Pertumbuhan Jamur *R. solani* dengan Bakteri Antagonis secara *In Vitro*

Bakteri antagonis yang telah diseleksi dan memiliki persentase penghambatan tinggi terhadap jamur patogen *R. solani* selanjutnya diuji sifat antagonisnya menggunakan metode oposisi langsung. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bakteri antagonis dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *R. solani*. Berikut merupakan data rerata persentase penghambatan bakteri antagonis terhadap jamur patogen *R. solani* secara *in vitro* (Tabel 4).

Tabel 2. Rerata Persentase Penghambatan Bakteri Antagonis terhadap Jamur *R. solani* secara *In Vitro*

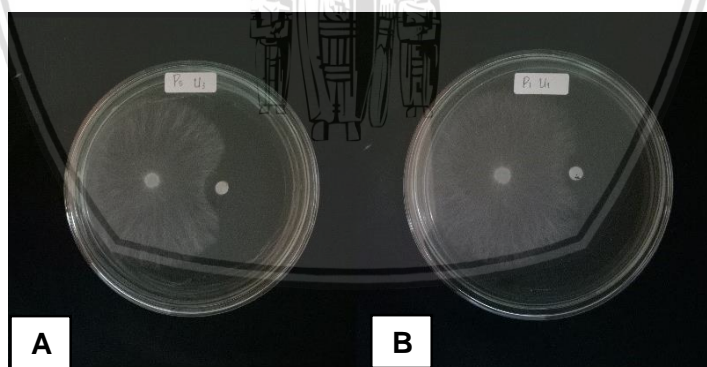
Perlakuan	Rerata persentase zona hambat (%)	
	10 JST \pm SD	20 JST \pm SD
Fungisida	11,43 \pm 2,21	32,49 \pm 3,18 ^{bc}
Isolat B11	10,68 \pm 2,01	34,99 \pm 3,35 ^c
Isolat B20	11,97 \pm 2,29	34,16 \pm 1,66 ^{bc}
Isolat B27	12,84 \pm 2,52	32,49 \pm 7,87 ^{bc}
Isolat B28	11,60 \pm 2,45	32,49 \pm 7,87 ^{bc}
Isolat B30	10,54 \pm 1,68	26,66 \pm 4,71 ^b

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%, JST : Jam Setelah Tanam

Dari hasil analisis ragam (Tabel lampiran 1) menunjukkan bahwa isolat bakteri antagonis memiliki pengaruh nyata terhadap penghambatan jamur patogen *R. solani* pada 20 JST. Diketahui bahwa kemampuan penghambatan pada perlakuan isolat B20, isolat B27 dan isolat B28 setara dengan kemampuan penghambatan pada perlakuan fungisida. Sedangkan isolat bakteri yang memiliki kemampuan penghambatan terbaik yaitu pada perlakuan isolat B11 yang berpengaruh nyata terhadap perlakuan isolat B30. Bakteri antagonis mampu menghambat perkembangan patogen dikarenakan memiliki senyawa antibiotik. Senyawa yang dihasilkan bakteri antagonis mampu menghasilkan zona bening terhadap jamur patogen *R. solani* yang mengakibatkan miselia jamur patogen tumbuh menghindari bakteri antagonis. Mekanisme antagonis bakteri tersebut tergolong antibiosis.

Antibiosis merupakan sifat antagonisme yang disebabkan oleh kemampuan mikroba untuk menghasilkan metabolit primer berupa enzim yaitu selulose, kitinase dan glukonase serta metabolit sekunder yaitu antibiotika yang bersifat racun bagi patogen tanaman (Agrios,2005). Hal tersebut dapat dilihat adanya zona bening antara miselium jamur *R. solani* dan bakteri antagonis (Gambar 8).

Berikut merupakan hasil uji penghambatan jamur *R. solani* dengan bakteri antagonis secara *in vitro*.



Gambar 3. Uji antagonis bakteri pada 20 JST. (A) : P5 Isolates B27, (B) : Kontrol Fungisida.

4.5 Identifikasi Bakteri Antagonis

4.5.1 Karakterisasi Morfologi

Pengamatan morfologi bakteri dilakukan dengan mengamati koloni tunggal. Biakan bakteri diinkubasi selama 24 jam dan dilakukan *streak* agar didapatkan koloni tunggal. Terdapat 5 isolat bakteri yang bersifat antagonis terhadap jamur patogen *R. solani* yaitu bakteri dengan kode B11, B20, B27, B28 dan B30. Berikut

hasil karakterisasi bakteri yang bersifat antagonis terhadap jamur patogen *R. solani* secara morfologi pada Tabel 5.

Tabel 3. Karakteristik morfologi bakteri antagonis

Isolat	Karakterisasi morfologi			
	Bentuk	Permukaan	Warna	Tepi
B11	Bulat	Datar	Putih	Bergerigi
B20	Bulat	Cembung	Putih	Rata
B27	Bulat	Cembung	Putih kekuningan	Rata
B28	Bulat	Cembung	Putih kekuningan	Rata
B30	Bulat	Cembung	Putih kekuningan	Rata

Dari hasil pengamatan morfologi diketahui bahwa bakteri rizosfer legum lamtoro yang memiliki potensi antagonis umumnya memiliki bentuk morfologi bulat dengan permukaan datar dan cembung berwarna putih hingga putih kekuningan. Koloni bakteri memiliki tepi rata dan bergerigi. Berikut merupakan bentuk koloni pada isolat B11.



Gambar 4. Bentuk Koloni bakteri (A) isolat B11 pada cawan petri, (B) bentuk mikroskopis koloni bakteri B11

4.5.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi bakteri berpedoman pada buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan (Schaad *et al.*, 2001). Berikut hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia dapat dilihat pada Tabel 6.

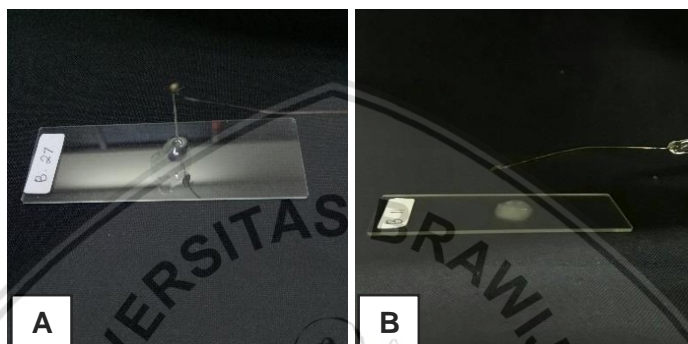
Tabel 4. Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia pada Bakteri

Karakterisasi	Isolat				
	B11	B20	B27	B28	B30
Uji KOH	+	+	-	-	-
Uji Pewarnaan Gram	+	+	-	-	-
Uji Pengecatan Endospora	+	+	TU	TU	TU
Uji Oksidatif-Fermentatif	F	F	F	F	F
Pertumbuhan koloni kuning pada media YDC	TU	TU	+	+	+

Keterangan : Karakterisasi fisiologi dan biokimia bakteri. (-) reaksi negatif, (+) reaksi positif, (TU) tidak dilakukan uji, (F) Fermentatif

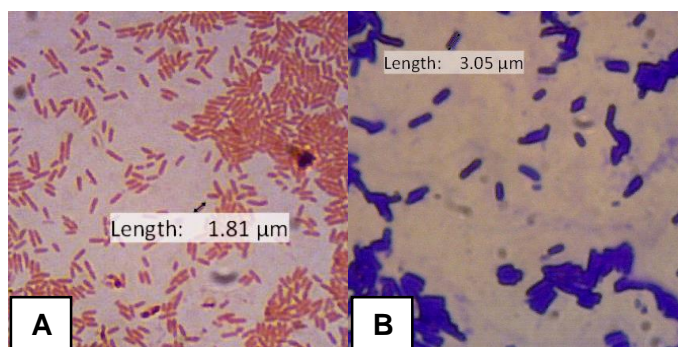
1. Uji Gram

Uji gram dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri bersifat gram negatif atau gram positif. Pengujian dilakukan dengan menggunakan kalium hidroksida (KOH) 3% dan pengecatan gram. Berdasarkan pengujian KOH 3% terdapat tiga isolat bakteri yang termasuk gram negatif yaitu isolat B27, B28 dan B30. Bakteri gram negatif ditandai dengan adanya lendir pada bakteri yang diuji. Sedangkan dua isolat bakteri (B11 dan B20) termasuk gram positif karena tidak terdapat lendir pada saat uji KOH 3% (Gambar 10).



Gambar 5. Hasil Uji KOH 3% (A) isolat bakteri B27 menghasilkan lendir, (B) isolat bakteri B11 tidak menghasilkan lendir

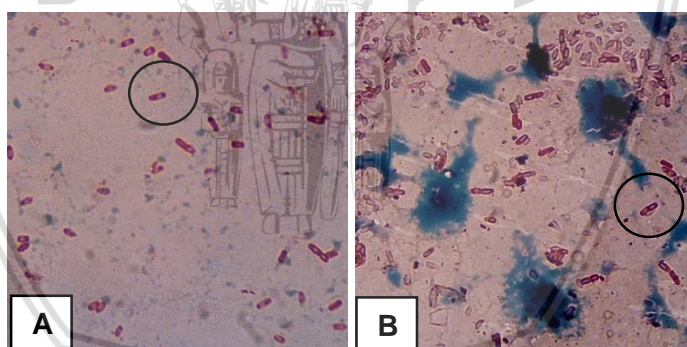
Hasil uji pewarnaan gram yang telah diamati pada mikroskop dengan perbesaran 100x terdapat tiga isolat bakteri (B27, B28 dan B30) merupakan gram negatif berbentuk basil (batang) dan berwarna merah. Sedangkan dua isolat bakteri (B11 dan B20) merupakan gram positif dengan bentuk basil dan berwarna biru keunguan. Berdasarkan Schaad *et al.*, (2001) hasil uji pewarnaan gram untuk bakteri Gram positif berwarna ungu sampai biru kehitaman, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah. Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal, sedangkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Fitri dan Yasmin, 2011).



Gambar 6. Sel bakteri pada perbesaran 100x (A) gram negatif isolat B27 (B) gram positif isolat B11

2. Pengecatan Spora

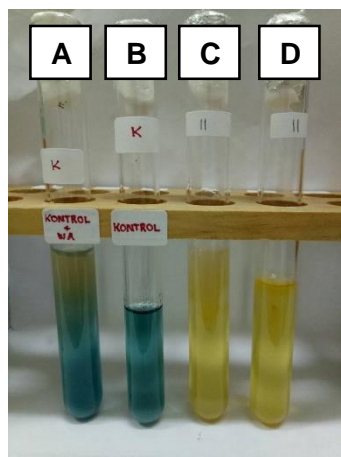
Pengecatan spora dilakukan pada bakteri dengan gram positif. Pengecatan spora dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut memiliki endospora atau tidak. Berdasarkan lima isolat bakteri terdapat dua isolat bakteri Gram positif dan menghasilkan spora yaitu isolat B11 dan isolat B20 (Gambar 12). Endospora merupakan struktur bakteri yang dapat bertahan pada keadaan yang tidak menguntungkan seperti kekeringan, kekurangan nutrisi, pembekuan, serta bahan-bahan kimia (Puspitasari *et al.*, 2012).



Gambar 7. Hasil pewarnaan spora (A) isolat B20 (B) isolat B11

3. Uji Oksidatif-Fermentatif

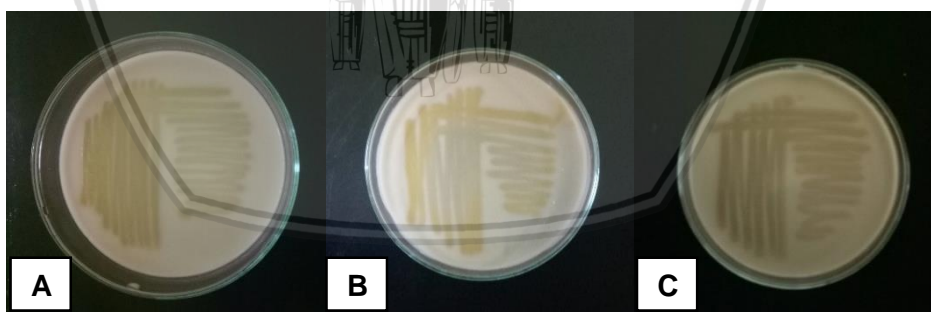
Hasil uji Oksidatif dan fermentatif menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri B11, B20, B27, B28 dan B30 menghasilkan reaksi oksidatif, hal ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari warna biru menjadi warna kuning pada media yang dilapisi dengan *water agar* (Gambar 13). Menurut Schaad *et al.*, (2001) pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan warna media dari warna biru menjadi kuning pada tabung yang tidak dilapisi *water agar* tetapi tidak terjadi perubahan warna pada tabung yang dilapisi *water agar*.



Gambar 8. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif, (A) kontrol dengan water agar, (B) kontrol tanpa water agar, (C) isolat B11 dengan water agar, (D) isolat B11 tanpa *water agar*

4. Pertumbuhan pada Media YDC

Berdasarkan hasil pengujian bakteri B27, B28 dan B30 pada media YDC menghasilkan koloni berwarna kuning, sehingga bakteri tersebut termasuk genus *Pantoea* (Gambar 14). Sesuai dengan Schaad *et al* (2001), bakteri yang bersifat anaerob ketika ditumbuhkan pada media YDC berwarna kuning merupakan bakteri dari genus *Pantoea*. Sedangkan bakteri yang bersifat anaerob positif apabila ditumbuhkan pada media YDC berwarna putih merupakan bakteri dari genus *Erwinia*.



Gambar 9. Hasil pertumbuhan koloni kuning pada Media YDC (A) isolat bakteri B28, (B) isolat bakteri B30, (C) isolat bakteri B27

4.5.3 Identifikasi Bakteri Rizosfer Tanaman Lamtoro

1. Isolat B11

Bakteri dengan kode isolat B11 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat dengan tepi rata dan elevasi datar berwarna putih. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat B11 merupakan gram positif ditandai dengan uji KOH 3% yang tidak menghasilkan lendir. Pada uji pewarnaan gram

menunjukkan bahwa bakteri berbentuk batang dan berwarna ungu. Isolat B11 menghasilkan spora pada saat uji pewarnaan endospora dan bereaksi positif pada saat pengujian oksidatif fermentatif. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Clostridium*.

2. Isolat B27

Bakteri dengan kode isolat B27 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat dengan tepi rata dan elevasi cembung berwarna putih kekuningan. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat B27 merupakan gram negatif hal ini ditandai dengan adanya lendir pada saat pengujian KOH 3%. Pada uji pewarnaan gram bakteri menunjukkan warna merah dengan bentuk batang. Sedangkan pada pengujian oksidatif fermentatif isolat B27 menghasilkan reaksi positif. Pada pertumbuhan media YDC isolat bakteri B27 menghasilkan koloni berwarna kuning. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Pantoea*.

3. Isolat B28

Bakteri dengan kode isolat B28 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat dengan tepi rata dan elevasi cembung berwarna putih kekuningan. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat B28 merupakan gram negatif hal ini ditunjukkan dengan adanya lendir pada saat pengujian KOH 3%. Kemudian pada uji pewarnaan gram bakteri menunjukkan warna merah dengan bentuk batang. Pada pengujian oksidatif fermentatif isolat B28 menghasilkan reaksi positif. Pada pertumbuhan media YDC isolat bakteri B28 menghasilkan koloni berwarna kuning. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Pantoea*.

4. Isolat B20

Bakteri dengan kode isolat B20 secara morfologi memiliki bentuk koloni bulat dengan tepi rata dan elevasi cembung berwarna putih. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat B20 merupakan gram positif, hal ini ditunjukkan pada saat pengujian KOH 3% bakteri tidak menghasilkan lendir. Pada uji pewarnaan gram bakteri berwarna ungu dan berbentuk batang. Sedangkan dari

hasil uji pewarnaan endospora bakteri ini menghasilkan spora dan bereaksi positif pada pengujian oksidatif fermentatif. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Clostridium*.

5. Isolat B30

Bakteri dengan kode isolat B30 secara morfologi memiliki ciri-ciri yaitu bentuk koloni bulat dengan tepi rata dan elevasi cembung berwarna putih kekuningan. Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat B30 merupakan gram negatif hal ini ditandai dengan adanya lendir pada saat pengujian KOH 3%. Pada uji pewarnaan gram bakteri menunjukkan warna merah dengan bentuk batang. Sedangkan pada pengujian oksidatif fermentatif isolat B30 menghasilkan reaksi positif. Pada pertumbuhan media YDC isolat bakteri B30 menghasilkan koloni berwarna kuning. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Pantoea*.

4.6 Pengaruh Aplikasi Bakteri terhadap Kejadian Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai

4.6.1 Rerata Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah

Hasil penelitian secara *in vivo* dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari bakteri antagonis terhadap perkembangan kejadian penyakit rebah kecambah. Aplikasi bakteri dilakukan dengan cara perendaman benih sebelum tanam dan penyiraman yang dilakukan ketika tanaman berumur 6 HST. Persentase rerata kejadian penyakit yang disebabkan oleh *R. solani* dapat dilihat pada (tabel 7).

Tabel 5. Rerata Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai

Perlakuan	Rerata Kejadian Penyakit (%)				
	4 HSI±SD	8 HSI±SD	12 HSI±SD	16 HSI±SD	20 HSI±SD
Kontrol	1,29±0,77	3,95±0,93	16,25±7,5 ^{bc}	21,25±4,78 ^b	22,50±5 ^b
Fungisida	1,12±0,81	2,73±1,38	10±3,4,08 ^{ab}	13,75±4,78 ^a	13,75±4,78 ^a
Isolat B11	1,12±0,81	2,93±0,73	12,5±2,88 ^{bc}	17,5±6,45 ^a	18,75±4,78 ^{ab}
Isolat B20	1,15±0,79	1,93±1,41	8,75±4,78 ^a	13,75±4,78 ^a	13,75±4,78 ^a
Isolat B27	0,71±0	2,34±1,15	16,25±7,5 ^c	18,75±6,29 ^{ab}	20,00±4,08 ^{ab}
Isolat B28	0,7±0	1,7±1,22	12,5±5 ^{ab}	13,75±4,78 ^a	15,0±4,08 ^{ab}
Isolat B30	1,1±0,81	2,1±1,42	12,5±6,45 ^{ab}	18,75±6,29 ^{ab}	18,8±6,29 ^{ab}

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Hasil uji penekanan yang dilakukan secara *in vivo* menunjukkan gejala serangan jamur patogen *R. solani* pada tanaman kedelai mulai tampak pada 4 HSI. Gejala serangan penyakit rebah kecambah yaitu berupa gejala layu, pertumbuhan abnormal dan pangkal batang berwarna kecoklatan yang kemudian membusuk (Gambar 15). Hal ini sesuai dengan Hidayah dan Yulianti (2015), yang menyatakan bahwa gejala rebah kecambah dapat terjadi sebelum bibit muncul pada permukaan tanah maupun setelah muncul pada permukaan tanah. Gejala rebah kecambah setelah bibit muncul yaitu berupa tanaman layu karena pada bagian batang yang membusuk.



Gambar 10. Gejala penyakit rebah kecambah 18 HST

Infeksi patogen pada akar dan batang menyebabkan penyumbatan jaringan xylem, sehingga pengangkutan air dan unsur hara ke bagian daun terhambat, sehingga menjadi layu dan kemudian busuk. Penyumbatan jaringan xylem oleh patogen pada awalnya menyebabkan tanaman layu seperti kekurangan air, dan kembali segar sore hari, namun setelah empat hari gejala tersebut tidak dapat pulih kembali seperti semula, karena batang tanaman yang terinfeksi telah menjadi busuk, (Sastrahidayat 1990 *dalam* Setiawati dan Mihardja 2008).

Dari hasil analisis ragam menunjukkan bahwa aplikasi bakteri terhadap kejadian penyakit rebah kecambah pada pengamatan 12 HSI hingga 20 HSI menunjukkan bahwa perlakuan isolat B20 berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Pada pengamatan 16 hingga 20 HSI diketahui bahwa perlakuan isolat B20 memiliki kemampuan yang sama dengan perlakuan fungisida dalam menekan penyakit rebah kecambah. Perlakuan isolat B20 tersebut tergolong dalam genus *Clostridium*. Menurut Soesanto, (2008), bakteri genus *Clostridium* menghasilkan antibiotika yang mampu menghambat pertumbuhan patogen, terutama pada patogen tular tanah. *Clostridium* memproduksi senyawa metabolit yang bervariasi, baik dari

struktur maupun fungsinya. Senyawa metabolit yang dihasilkan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Menurut Kim *et al.*, (2004) pada bakteri genus *Acetobacter* dan *Clostridium* dikenal memiliki senyawa acid yang berperan memiliki kemampuan antibakteri. Senyawa acid memperlihatkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dengan cara menghancurkan dinding sel dan menghambat sintesis dinding sel (Mutchler, 1991).

Rendahnya insidensi penyakit atau ketidakmunculan gejala pada perlakuan rizobakteri diduga karena bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk menghasilkan atau memproduksi senyawa metabolik sekunder, seperti antibiotik yang mampu menekan perkembangan patogen dan enzim kitinase yang mampu mendegradasi kitin yang merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel jamur *R. solani* sehingga perkembangan jamur tersebut terhambat akibat adanya aktivitas rizobakteri di sekitar perakaran tanaman (Khaeruni *et al.*, 2014). Harni & Khaerati (2013) dan Baker & Cook (1974) menambahkan bahwa bakteri yang bersifat antagonis merupakan bakteri yang dapat menghambat atau mematikan patogen dengan metabolik yang dihasilkannya, mekanismenya dapat berupa antibiosis dengan menghasilkan enzim, senyawa-senyawa volatil, zat pelisis dan substansi racun lainnya.

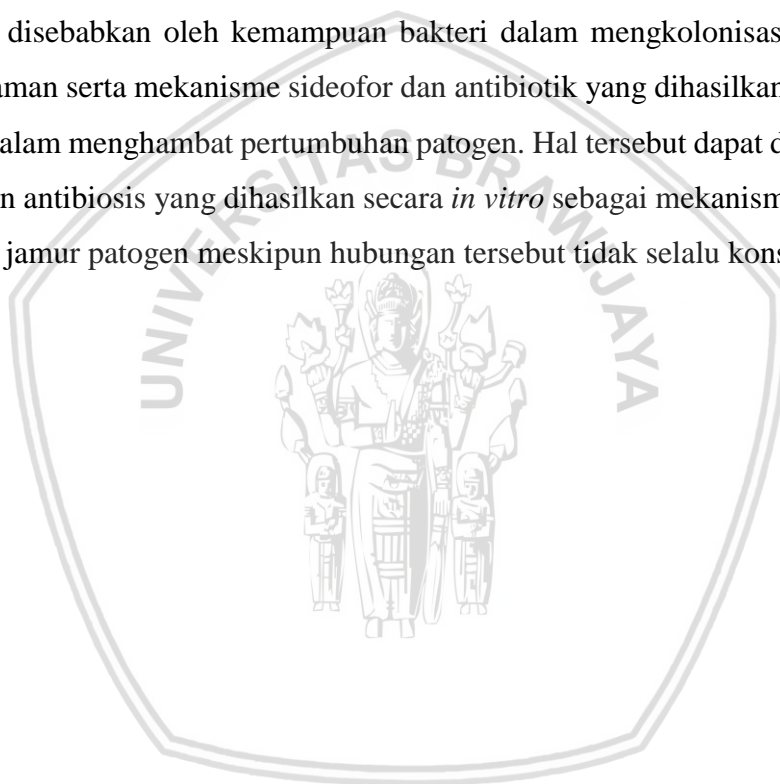
4.6.2 Rerata Persentase Efektifitas Bakteri Antagonis dalam Menekan Penyakit Rebah Kecambah.

Persentase efektifitas bakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri antagonis mampu menekan penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai. Persentase rerata efektifitas bakteri antagonis dalam menekan penyakit rebah kecambah pada kedelai dapat dilihat pada (Tabel 8).

Tabel 6. Rerata persentase efektifitas bakteri antagonis dalam menekan penyakit Rebah kecambah

Perlakuan	Efektifitas bakteri antagonis (%)				
	4 HSI	8 HSI	12 HSI	16 HSI	20 HSI
Fungisida	66,66	46,15	38,46	35,29	38,88
Isolat B11	66,66	46,15	23,07	17,64	16,66
Isolat B20	0	69,23	46,15	35,29	38,88
Isolat B27	100	61,53	0	11,76	11,11
Isolat B28	100	76,92	7,6	35,29	33,33
Isolat B30	66,66	61,53	23,07	11,76	16,66

Pada pengamatan pertama 4 HSI menunjukkan bakteri antagonis yang paling efektif dalam menekan penyakit rebah kecambah yaitu pada perlakuan isolat B27 dan perlakuan isolat B28. Sedangkan pada pengamatan ke-20 HSI menunjukkan bahwa perlakuan yang memiliki tingkat efektifitas tinggi yaitu pada perlakuan fungisida dan perlakuan isolat B20. Efektifitas beberapa bakteri antagonis berbeda-beda, salah satu faktor keberhasilan agens hayati dalam menekan penyakit antara lain ialah kemampuannya dalam mengkolonisasi pada lingkungan yang sama dengan patogen (Handini dan Nawangsih,2014). Campbell (1989) menambahkan bahwa efektifitas dalam mengendalikan penyakit atau patogen pada tanaman disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam mengkolonisasi permukaan akar tanaman serta mekanisme sideofor dan antibiotik yang dihasilkan setiap isolat bakteri dalam menghambat pertumbuhan patogen. Hal tersebut dapat diekspresikan dari peran antibiosis yang dihasilkan secara *in vitro* sebagai mekanisme penekanan terhadap jamur patogen meskipun hubungan tersebut tidak selalu konsisten.



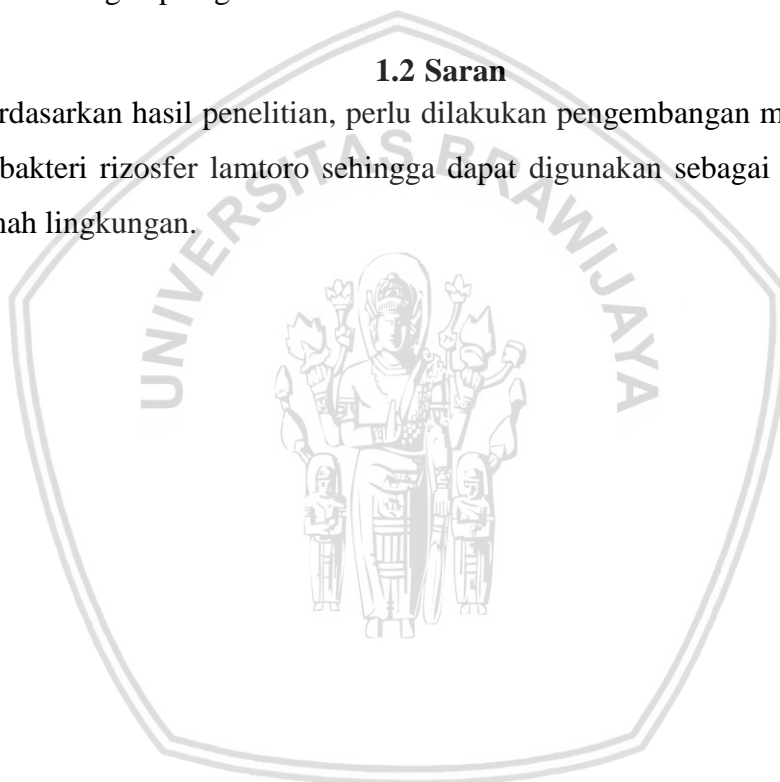
V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Eksplorasi bakteri rizosfer legum lamtoro memperoleh 31 isolat bakteri dan terdapat 9 isolat bakteri yang memiliki sifat antagonis terhadap jamur patogen *R. solani*. Hasil identifikasi 5 bakteri antagonis dengan zona hambat tinggi yaitu isolat bakteri B11 dan B20 berasal dari genus *Clostridium* sedangkan isolat B27, B28 dan B30 merupakan genus *Pantoea*.
2. Genus *Clostridium* memiliki kemampuan terbaik dalam menekan perkembangan patogen *R. solani* secara *in vitro* dan *in vivo*.

1.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu dilakukan pengembangan metode terkait aplikasi bakteri rizosfer lamtoro sehingga dapat digunakan sebagai agens hayati yang ramah lingkungan.



DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., Aini, L. Q., dan Abadi, A. L. 2014. Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai. Jurnal HPT 3(1)
- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, California. hlm. 593-599
- Campbell R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press, Cambridge.
- Damardjati, D. S., Marwoto, D. K. S., Swastika, D. M., Arsyad, dan Hilman, Y. 2005. Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Kedelai. Badan Litbang Pertanian. Departemen Pertanian, Jakarta
- Dey, R.K.K.P., Bhatt, D.M., and Chauhan, S.M. 2004. Growth Promotion and Yield Enhancement of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) by Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Microbiological Research. 159: 371-394.
- Fitri, L. dan Yasmin, Y. 2011. Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi. 3(2): 20-25.
- Gutierrez, W. A., Shew. H.D., and Melton.T.A.1997.Sources of Inoculum and Management for *Rhizoctonia solani* Damping-off on Tobacco Transplants under Greenhouse Conditions.Department of Plant Pathology, North Carolina State University.
- Haas, and Devago, G. 2005. Biological Control of Soil Borne Pathogens by *Pseudomonas fluorescent*.Nature Reviews Microbiology.3:307-319
- Handini, Z.P.T dan Nawangsih, A.A.2014.Keefektifan Bakteri Endofit dan Bakteri Perakaran Pemacu Pertumbuhan Tanaman dalam Menekan Penyakit Layu Bakteri pada Tomat. Jurnal Fitopatologi Indonesia.10(2):61-67
- Harni, R dan Khaerati. 2013. Evaluasi Bakteri Endofit Untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus coffeae* Pada Tanaman Kopi. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar. 4 (2): 109-116
- Herliyana, E.N., R.Jamilah, D. Taniwiryono, dan A.Firmansyah.2013. Uji in vitro Pengendalian Hayati oleh *Thricoderma* spp. Terhadap *Ganoderma* yang menyerang Sengon. Silvikultur Trop. 4 (3):190-195
- Hidayah, N dan Yulianti, T.2015. Uji Antagonisme *Bacillus cereus* terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii*. Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri 7(1) :1-8
- Irawan, A.2006.Budidaya Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Meril.).Universitas Padjajaran.Bandung

- Jayasumarta, D.2012. Pengaruh system olah tanam dan pupuk P terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai (G.max). Fakultas Pertanian. Universitas Muhamadyah.Sumatra Utara.
- Khadim M., P.A. Mihardjo, A. Majid. 2014. Efektivitas Beberapa Isolat Bacillus spp Untuk Mengendalikan Patogen Jamur Rhizoctonia. solani Pada Tanaman Kedelai. Berkala Ilmiah Pertanian 1(1): xx-xx
- Khaeruni,A., Asniah., Taufik,M., Sutariati.G.A.K. 2014. Aplikasi Formula Campuran Rizobakteri untuk Pengendalian Penyakit Busuk Akar Rhizoctonia dan Peningkatan Hasil Kedelai di Tanah Ultisol.Jurnal Fitopatologi. 2(10): 37-44
- Kim TK, MJ Garson, and J A Fuerst. 2005. Marine actinomycetes related to the Salinospora group from the Great Barrier Reef sponge Pseudoceratina clavata. Environ. Microbiol., 7:509-518
- Madigan M.T, Martinko J.M., Parker J.2000.Brock Biology of Microorganism. Eight Editio. Prentice Hall International,Inc
- Margono, T., Detty, S., Hartinah, S.2000. Susu Kedelai. Kantor Deputy Menegristek Bidang Pendatagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.Jakarta
- Mariana, S. 2013. Total Populasi Mikroba dan Aktifitas Protase pada Tanah Gambut di Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu Riau. Skripsi. Jurusan Biologi. FMIPA. Universitas Riau
- Noverita.2009.Identifikasi Kapang Dan Khamir Penyebab PenyakitManusia Pada Sumber Air Minum Penduduk Pada SungaiCiliwung Dan Sumber Air Sekitarnya. Jurnal VIS VITALIS.2(2)
- Nuraeni, Y .2015. Hama Utama Tanaman Lamtoro (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) Dan Aspek Pengendaliannya.Balai Penelitian Kehutanan Banjarbaru.2 (1)
- Nurhayati.2011. Penggunaan Jamur dan Bakteri dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati yang Ramah Lingkungan. *Dalam* Kumpulan Makalah Bidang Ilmu-Ilmu Pertanian.BKS-PTN Wilayah Barat.Palembang.
- Puspitasari, F., Shovitri, M dan Kuswytasari,N..2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. Jurnal Sains Dan Seni ITS. 1(1) 2301-928
- Rachmawati, D., dan Handoko. 2007. Pengujian Lapangan Efikasi Insektisida Profenofos 500 g/l Ter. hadap Hama Ulat Grayak *Spodoptera exigua* Hbn. Pada Tanaman Bawang Merah. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Timur Hal : 303 – 308
- Raharini, A.O., Kawuri, Retno dan Khalimi, K.2012. Penggunaan *Streptomyces* sp. Sebagai Biokontrol Penyakit Layu pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum*

annuum L) yang Disebabkan Oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici*.
Fakultas Pertanian.Universitas Udayana.2 (2):155

- Rahayu, M., Baliadi, Y., Prayogo, Y., Bedjo, Hardaningsih, S. 2011. Status, komposisi species dan dominansi hama penyakit kedelai, musuh alami dan tanaman inang hama penyakit kedelai di lahan pasang surut. Laporan Akhir. Balai Penelitian Tanaman Kacangkacangan dan Umbi-umbian Malang. 37 hlm.
- Rokhlani., Patiningsih, N dan Soesanto, L.2005. Penekanan Beberapa Antagonis Terhadap Penyakit Layu *Fusarium gladio*.Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian, Universitas Jendral Soedirman.p 4.
- Rozy, F., Listiany, E., Maftuhah. 2004. Kemampuan Mikoriza Mengendalikan Serangan *Rhizoctonia solani* Kuhn pada Kedelai. Jurnal HPT.2(2)
- Russin, J.S., and SR. Stetina. 1999. *Rhizoctonia* foliar blight. In: G. L. Hartman, J. B. Sinclair, and J. C. Rupe (eds). Compendium of Soybean Diseases, 4th ed.. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. pp: 24–25.
- Schaad, N.W., Jones, J.B dan Chun, W.2001. Laboratory Guidefor Identification of Plant Pathogen Bacteria.Ed Ketiga.APS Press.St Paul Mennessota.
- Setiawati, T.C dan Mihadja, P.A.2008. Identifikasi dan Kuantifikasi Metabolit Bakteri Pelarut Fosfat dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Kedelai. Jurnal Tanah Trop.13(2):233-240
- Sharma,A., Diwevidi, V.D., Sighn, S.,Pawar, K.K.,Jerman, M., Sighn, L.B.,Singh, S., dan Srivastawa,D.2013. Biological Control and its Important in Agriculture. Journal of Biotechnology and Bioengineering Research.4(3):157-180.
- Signh, G.2010. The Soybean Botany, Production, Uses. Departemen of Plant Breeding and Genetics Punjab Agricultural University Ludhiana.India
- Silaban, I.C.,Aini.L.Q dan Syib'li .M.A,2015. Pengujian Konsorsium Mikroba Antagonis Untuk Mengendalikan Jamur *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Kedelai (*Glycine Max* L.). Jurnal HPT. 3 (2)
- Sneh, B, Burpee, L & Ogoshi, A 1991, Identification of Rhizoctonia species, The American Phy-topathological Society: St. Paul Minnesota, USA.
- Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. Penerbit Raja Grafindo Persada, Jakarta. Hal. 573.
- Solichatun, Khalimi, K., dan Sudarma, I.M. 2013. Isolasi dan Identifikasi Rizobakteri dari Rizosfer Kacang Tanah dan Uji Efektivitasnya dalam Mengendalikan Penyakit Layu *Fusarium* pada Tanaman Tomat. Agroekoteknologi Tropika. 2 (4): 260-270.

- Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics, syntheses and specific function. *Molecular Microbiology*. 56 (4) : 854-857
- Subandi, 2010. *Mikrobiologi Perkembangan, Kajian dan Pengamatan dalam Perspektif Islam*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Sudrajat, D., Mulyana, N., Adhari, A. 2014. Seleksi Mikroba Rizosfer Lokal Untuk Bahan Bioaktif pada Inokulan Berbasis Kompos Iradiasi. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 10 (1): 23-34
- Sugiyama, A. dan Yazaki, K. 2012. Root Exudates of Legume Plants and Their Involvement in Interactions with Soil Microbes. *Springer*. 8: 27-48
- Sumartini. 2011. Penyakit Tular Tanah (*Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*) Pada Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Serta Cara Pengendaliannya. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. *Jurnal Litbang Pertanian*, 31 (1)
- Tindaon H. 2008. Pengaruh Jamur Antagonis *Trichoderma harzianum* dan Pupuk Organik Untuk Mengendalikan Patogen Tular Tanah *Sclerotium rolfsii* Sacc. Pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* L) di Rumah Kaca. Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara. Hal 12-19
- Wahyudi, A. T., Meliah, S., Nawangsih, A. A. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun Pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, Dan Telaah Mutagenesis Dengan Transposon. *Makara, Sains*. 15(1): 89-96
- Wibisono, A., Majid, A. Mihardjo, P. A. 2014. Efektivitas Beberapa Isolat *Pseudomonas fluorescens* Untuk Mengendalikan Patogen Jamur *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Kedelai. *Universitas Jember*. 10(10)
- Widayanti T, 2007. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Indigenus Penghasil Asam Indol Asetat Asal Tanah Rizosfer. Skripsi. Departemen Biologi FMIPA IPB.
- Yulianti, T dan Ibrahim, N 2000, Penyakit tanaman kapas dan pengendaliannya, dalam Subiyakto & Nurindah (eds), *Organisme pengganggu tanaman kapas dan musuh alami serangga hama kapas*, Balai Penelitian Tanaman Serat dan Tembakau (BALITTAS), Malang.
- Zhang, Y. 2004. Biocontrol Sclerotinia Stem Rot of Canola by Bacterial Antagonist and Study of Biocontrol Mechanism Involved. Thesis. University of Manitoba

Tabel Lampiran 1. Analisis ragam Persentase daya hambat pertumbuhan *R. solani* umur 10 JST

SK	JK	db	KT	F.Hit	F.Tabel
Perlakuan	469,12	6	78,19	18,56* *	2,57
Galat	88,46	21	4,21		
Total	557,58	27			

Tabel Lampiran 2. Analisis ragam persentase daya hambat pertumbuhan *R. solani* umur 20 JST

SK	JK	db	KT	F.Hit	F.Tabel
Perlakuan	3729,34	6	621,56	25,53**	2,57
Galat	511,22	21	24,34		
Total	4240,56	27			

Tabel Lampiran 3. Analisis ragam persentase kejadian penyakit rebah kecambah 4 HSI

SK	JK	db	KT	F.Hit	F.Tabel
Kelompok	1,71	3	0,57	1,27ns	3,16
Perlakuan	1,26	6	0,21	0,47ns	2,66
Galat	8,05	18	0,45		
Total	11,02	27			

Tabel Lampiran 4. Analisis ragam persentase kejadian penyakit rebah kecambah 8 HSI

SK	JK	db	KT	F.Hit	F.Tabel
Kelompok	3,28	3	1,09	0,67ns	3,16
Perlakuan	13,67	6	2,28	1,39ns	2,66
Galat	29,46	18	1,64		
Total	46,40	27			

Tabel Lampiran 5. Analisis ragam persentase kejadian penyakit rebah kecambah 12 HSI

SK	JK	db	KT	F.Hit	F.Tabel
Kelompok	4,87	3	1,62	0,17ns	3,16
Perlakuan	227,36	6	37,89	4,00*	2,66
Galat	170,71	18	9,48		
Total	402,94	27			

Tabel Lampiran 6. Analisis ragam persentase kejadian penyakit rebah kecambah 16 HSI

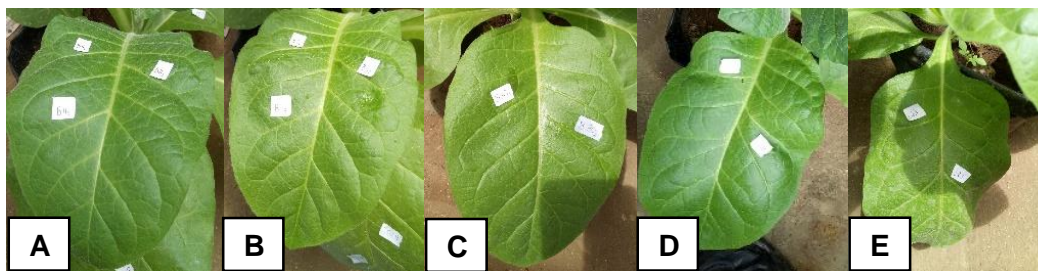
SK	JK	db	KT	F.Hit	F.Tabel
Kelompok	21,43	3	7,14	0,52ns	3,16
Perlakuan	260,00	6	43,33	3,14*	2,66
Galat	248,57	18	13,81		
Total	530,00	27			

Tabel Lampiran 7. Analisis ragam persentase kejadian penyakit rebah kecambah 20
HSI

SK	JK	db	KT	F.Hit	F.Tabel
Kelompok	60,71	3	20,24	0,83ns	3,16
Perlakuan	275,00	6	45,83	1,88ns	2,66
Galat	439,29	18	24,40		
Total	775,00	27			

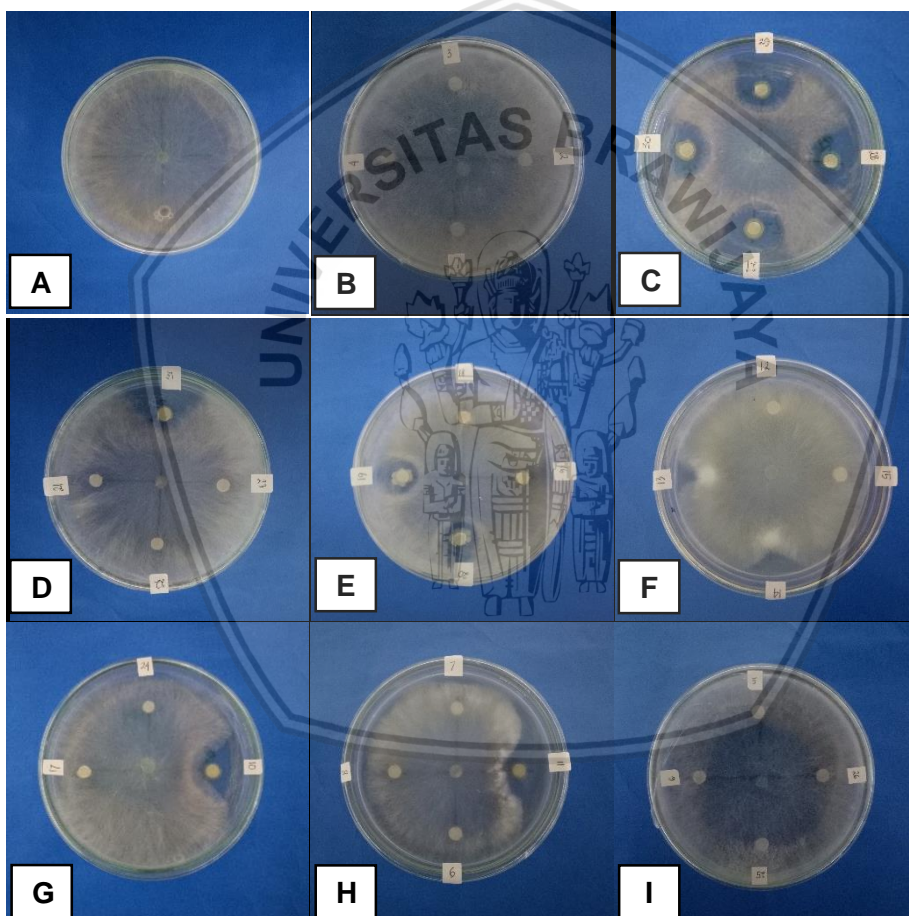


Lampiran 1. Uji Hipersensitif



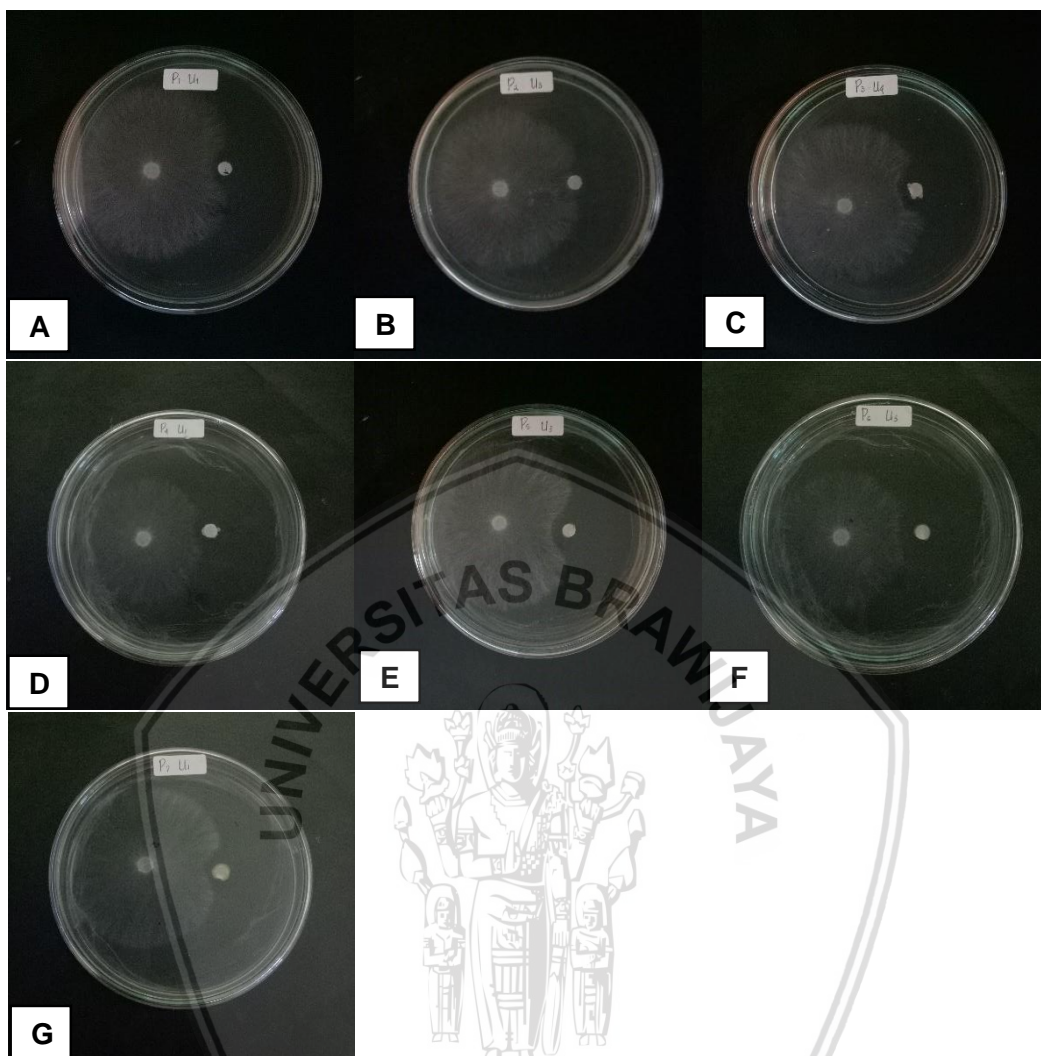
Keterangan : Hasil uji Hipersensitif (A) isolat B11, (B) isolat B20, (C) isolat B27, (D) isolat B28 dan (E) isolat B30.

Lampiran 2. Seleksi Bakteri Antagonis



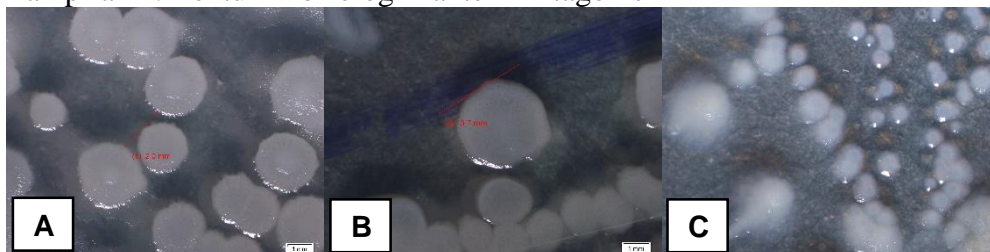
Keterangan : Hasil seleksi bakteri antagonis (A): kontrol, (B) : isolat 1,2,3 dan 4 dengan jamur *R. solani*, (C) : isolat 27,28,29 dan 30 dengan jamur *R. solani*, (D): isolat 21,22,23 dan 31 dengan jamur *R. solani*, (E) : isolat 16,18,19 dan 20 dengan jamur *R. solani*, (F): isolat 12,13,14 dan 15 dengan jamur *R. solani*, (G): isolat 10, 17 dan 24 dengan jamur *R. solani*, (H) : isolat 7,8,9 dan 11 dengan jamur *R. solani*, (I) : isolat 1,2,3 dan 4 dengan jamur *R. solani*

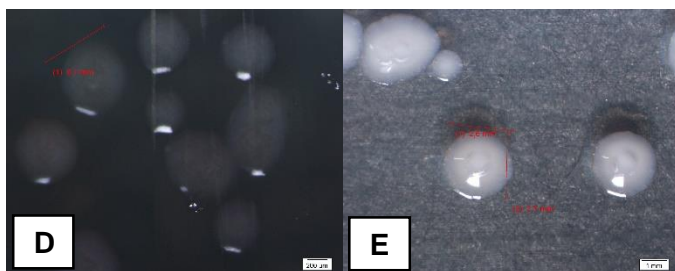
Lampiran 3. Hasil Uji In Vitro



Keterangan : Hasil uji *in vitro* (A) patogen dan fungisida, (B) kontrol, (C) patogen dan isolat B11, (D) patogen dan isolat B20, (E) patogen dan isolat B27, (F) patogen dan isolat B28, (G) patogen dan isolat B30.

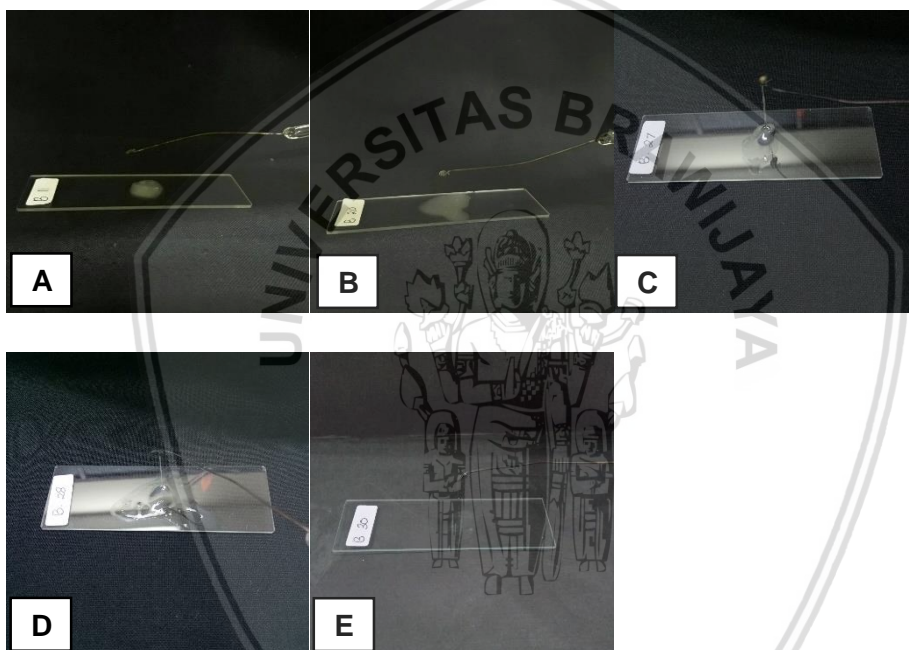
Lampiran 4. Bentuk Morfologi Bakteri Antagonis





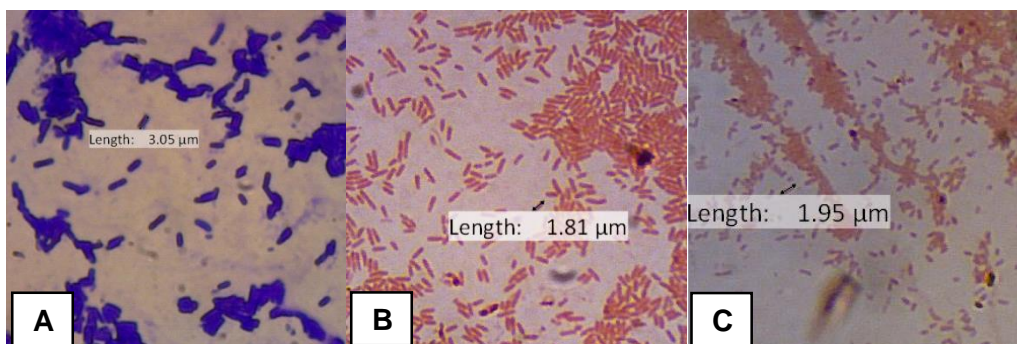
Keterangan: Hasil pengamatan morfologi bakteri antagonis (A) isolat bakteri B11, (B) isolat bakteri B20, (C) isolat bakteri B27, (D) isolat bakteri B28, (E) isolat bakteri B30.

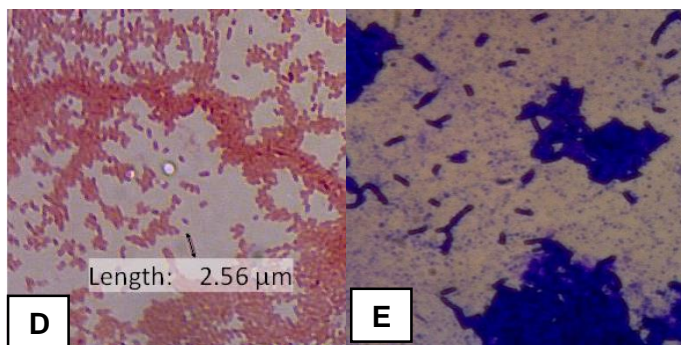
Lampiran 5. Uji KOH 3%



Keterangan: Hasil uji KOH 3% (A) isolat bakteri B11, (B) isolat bakteri B20, (C) isolat bakteri B27, (D) isolat bakteri B28, (E) isolat bakteri B30.

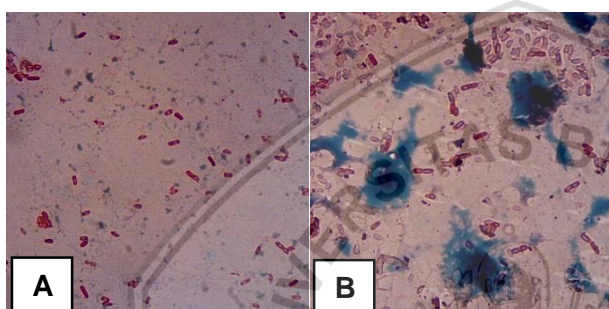
Lampiran 6. Uji Pewarnaan Gram





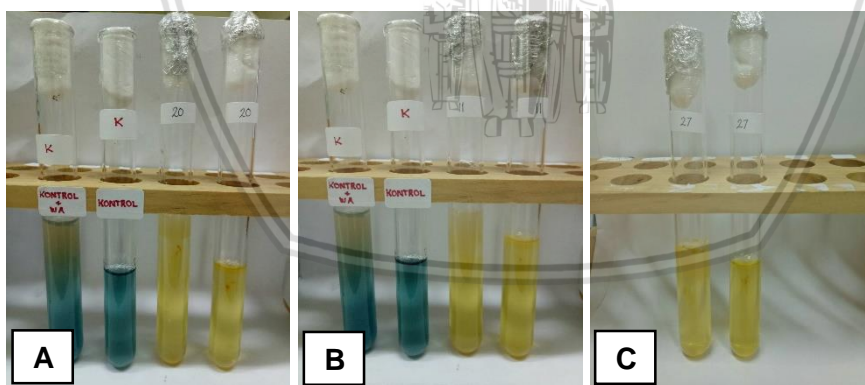
Keterangan : Hasil Uji Gram bakteri (A) Isolat Bakteri B11, (B) isolat bakteri B27, (C) isolat bakteri B30, (D) isolat bakteri B28, (E) isolat bakteri B20

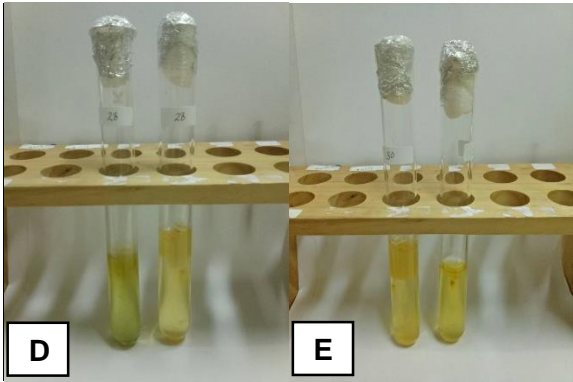
Lampiran 7. Uji Pewarnaan Spora



Keterangan : hasil uji pewarnaan spora (A) isolat bakteri B20, (B) isolat bakteri B11

Lampiran 8. Hasil Uji Oksidatif Fermentatif





Keterangan :Hasil uji oksidatif fermentatif (A) isolat bakteri B20, (B isolat bakteri B11, (C) isolat bakteri B27, (D) isolat bakteri B28, (E)isolat bakteri B30

Lampiran 9. Hasil uji pertumbuhan koloni kuning pada media YDC



Keterangan : Hasil pertumbuhan koloni kuning pada Media YDC (A) isolat bakteri B28, (B) isolat bakteri B30, (C) isolat bakteri B27

Lampiran 10. Denah Rancangan Penelitian

P7U1	P1U2	P2U2	P3U4
P1U1	P4U2	P3U3	P5U4
P2U1	P7U2	P6U3	P4U4
P3U1	P6U2	P5U3	P2U4
P4U1	P2U2	P7U3	P1U4
P5U1	P3U2	P1U3	P7U4
P6U1	P5U2	P4U3	P6U4

U

↕

↔

Lampiran 11. Hasil uji penekanan penyakit rebah kecambah



Tanaman Kedelai berumur 3 HST



Tanaman Kedelai 4 HSI



Perbandingan Perlakuan Kontrol, Fungisida dan Bakteri isolat B28



Gejala layu pada tanaman kedelai

Lampiran 12. Deskripsi varietas

DESKRIPSI VARIETAS

Dilepas tahun	: 22 Oktober 2001
SK Mentan	: 537/Kpts/TP.240/10/2001
Nomor galur	: Mansuria 395-49-4
Asal	: Seleksi massa dari populasi galur murni Mansuria
Daya hasil	: 2,03-2,25 t/ha
Warna hipokotil	: Ungu
Warna epikotil	: Ungu
Warna daun	: Hijau
Warna bulu	: Putih
Warna bunga	: Ungu
Warna kulit biji	: Kuning
Warna polong masak	: Coklat muda
Warna hilum	: Kuning kecoklatan
Bentuk daun	: Oval
Ukuran daun	: Lebar
Tipe tumbuh	: Determinit
Umur berbunga	: 35,7-39,4 hari
Umur polong masak	: 82,5-92,5 hari
Tinggi tanaman	: 64-68 cm
Percabangan	: 2,9-5,6 cabang
Jml. Buku batang utama	: 12,9-14,8
Bobot 100 biji	: 14,8-15,3 g
Kandungan protein	: 41,8-42,1%
Kandungan lemak	: 17,2-18,6%
Kerebahan	: Tahan rebah
Ketahanan thd penyakit	: Moderet terhadap karat daun
Sifat-sifat lain	: Polong tidak mudah pecah
Pemulia	: Takashi Sanbuichi, Nagaaki Sekiya, Jamaluddin M., Susanto, Darman M.A., dan M. Muchlish Adie

